



저작자표시-비영리-동일조건변경허락 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.
- 이차적 저작물을 작성할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



동일조건변경허락. 귀하가 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공했을 경우에는, 이 저작물과 동일한 이용허락조건하에서만 배포할 수 있습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

생활과학석사학위논문

파종시기가 다른 콩을 원료로 한
전통메주와 된장의
이화학적 특성 및 기능성 분석

Physicochemical and Functional Characteristics of
Traditional Meju and Doenjang with
Soybean in Different Seeding Times

2012년 8월

서울대학교 대학원
식품영양학과
강 선 희

파종시기가 다른 콩을 원료로 한
전통메주와 된장의
이화학적 특성 및 기능성 분석

Physicochemical and Functional Characteristics of
Traditional Meju and Doenjang with
Soybean in Different Seeding Times

지도교수 황 인 경

이 논문을 생활과학석사 학위논문으로 제출함
2012년 4월

서울대학교 대학원
식품영양학과
강 선 희

강선희의 생활과학석사 학위논문을 인준함
2012년 6월

위 원 장 _____ (인)

부 위 원 장 _____ (인)

위 원 _____ (인)

국문초록

본 연구에서는 파종시기가 다른 대원콩(5월 하순에 파종: 5L, 6월 중순에 파종: 6M, 6월 하순에 파종: 6L)으로 전통메주와 된장을 제조한 후, 이화학적 특성과 생리활성을 비교하여, 파종시기가 다른 원료콩의 메주와 된장의 가공품질에 적합한 파종시기를 알아보고자 하였다.

원료콩의 이화학적 특성을 살펴본 결과, 백립중, 외형적 특성과 조지방 함량은 파종시기에 따라 5L이 유의적으로 작게 나타났다. 색도는 파종시기에 따라 6L이 메탄올 추출물의 갈색도와 명도가 높고, 적색도와 황색도 값이 유의적으로 낮게 나타났다. 총 유리아미노산 함량은 6M이 가장 높았고, 환원당과 아미노테질소 함량은 6M이 유의적으로 높게 나타났다. 이소플라본 함량, 총 폴리페놀, 총 플라보노이드 함량은 파종시기에 따른 차이가 없었으나, DPPH 와 ABTS 유리기 소거능은 차이를 나타냈다.

파종시기가 다른 콩으로 만든 메주에서 수분, 조단백, 조지방, 조탄수화물이 유의적인 차이를 나타냈고, 색도는 5L의 명도가 유의적으로 높고, 적색도가 유의적으로 낮게 나타났다. 무기질 중 P, Na, K 등이 유의적인 차이를 나타냈고, 총 유리아미노산 함량은 6M의 메주가 높았다. pH와 환원당 함량은 6L 메주가 높았고, 총산도는 pH와 반대경향을 나타냈으며, 아미노테질소 함량과 이소플라본 함량은 6M 메주가 유의적으로 높았다. 총 폴리페놀과 총 플라보노이드 함량은 차이가 없었고, DPPH와 ABTS 유리기 소거능도 파종시기에 따른 유의적인 차이가 없었다.

파종시기가 다른 콩으로 만든 된장에서 조단백 함량이 파종시기에 따라 유의적인 차이를 나타냈고, 숙성기간이 증가할수록 수분함량은 감소하고, 일반성분 함량은 증가하였다. 된장의 색도는 메주의 색도와 같은 경향을 나타내며 유의적인 차이를 보였고, 숙성기간이 길어질수록 명도는 감소하고 적색도는 증가했다. 메탄올 추출물의 갈색도는 6M 된장이 높게 나타났으며 숙성기간이 길어질수록 증가하였다. 총 유리아미노산 함량은 6M 된장이 가장 높았고, 숙성기간이 길어질수록 증가하였다. pH는 6M 된장

에서 유의적으로 높게 나타났고, 숙성기간이 증가할수록 감소했으며, 총산도는 반대경향을 나타내었다. 환원당과 아미노태질소 함량은 6M 된장이 유의적으로 높았으나 환원당 함량은 숙성기간이 길어질수록 감소하는 반면, 아미노태질소 함량은 증가하였다. 된장의 총 폴리페놀과 총 플라보노이드 함량은 유의적인 차이가 없었으나 총 이소플라본 함량과 DPPH와 ABTS 유리기 소거능은 파종시기에 따라 차이를 나타내었다.

6M의 콩, 메주, 된장의 메탄올 추출물의 세포 생존율을 살펴본 결과 V-79 세포에서는 세포독성을 나타내지 않았고, H_2O_2 에 의해 유도된 산화적 스트레스에 대한 보호효과를 보였고, 숙성기간에 따라 보호효과가 증가했다. 대장암(HT-29)의 세포 성장 억제 효과를 측정한 결과 메주가 가장 좋은 성장 억제 효과를 나타냈다.

이상의 결과들을 종합하여 볼 때, 파종시기가 다른 콩의 영양성분 함량 및 기능성 물질이 차이를 나타냈으며 이는 메주에서 된장으로 발효되는 과정에 영향을 미치는 것을 확인하였다. 특히 6M의 콩, 메주, 된장의 환원당, 아미노태질소 함량 등이 높게 측정되었고, 항산화작용이 높게 나타났다. 또한 6M의 콩, 메주, 된장 추출물이 대장암세포 증식 억제 효과와 산화적 스트레스 보호 효과를 나타냈다.

이러한 결과들은 장류용 콩과 더불어 가공적성을 고려한 파종시기를 선택할 수 있는 기초자료로 활용될 수 있을 것으로 사료된다. 그러나 한해의 결과물만으로 파종시기에 따른 성분 차이를 결론짓기는 어렵다고 판단되며, 숙성 중의 환경적 요인의 영향도 미쳤을 것으로 판단되어 추후의 연구가 확대되어야 할 필요가 있다.

주요어 : 파종시기, 원료콩, 전통메주, 전통된장, 이화학적 특성, 생리활성

학 번 : 2010-21588

목 차

국문초록	i
목차	iii
표목차	vi
그림목차	viii
 I. 서론	 1
 II. 실험재료 및 방법	 5
1. 실험재료	
1.1. 원료콩	5
1.2. 메주 제조	5
1.3. 된장 제조	6
2. 실험방법	
2.1. 원료콩의 이화학적 특성 분석	8
2.1.1. 백립중	8
2.1.2. 외형적 특성	8
2.2. 콩, 메주, 된장의 이화학적 특성 분석	8
2.2.1 일반성분 분석	8
2.2.1.1. 수분 정량	8
2.2.1.2. 조지방 정량	9
2.2.1.3. 조단백 정량	9
2.2.1.4. 조회분 정량	10
2.2.1.5. 탄수화물 정량	10
2.2.2. 색도	11
2.2.3. 80% 메탄올 추출물의 갈색도	11
2.2.4. 무기질 성분 분석	11
2.2.5. 유리아미노산 분석	13
2.2.6. GABA 함량	15
2.2.7. pH, 총산도, 완충능	15
2.2.7.1. pH	15
2.2.7.2. 총산도	15
2.2.7.3. 완충능	15
2.2.8. 된장의 염도 함량	16
2.2.9. 환원당 함량	16
2.2.10. 아미노태질소 함량	17
2.3. 기능성 성분 분석	18

2.3.1. 80% 메탄올 추출 및 수율	18
2.3.2. 기능성 성분 분석	18
2.3.2.1. Isoflavone 함량	18
2.3.2.2. 총 폴리페놀 함량	20
2.3.2.3. 총 플라보노이드 함량	20
2.3.3. 항산화 활성 측정	21
2.3.3.1. DPPH 유리기 소거 활성능	21
2.3.3.2. ABTS 유리기 소거 활성능	21
2.3.4. ACE 저해 효과	22
2.3.5. 산화적 스트레스 보호 효과	23
2.3.5.1. V-79 세포의 생존율 측정	23
2.3.5.2. 산화적 스트레스 보호 효과	23
2.3.6. 대장암세포(HT-29) 증식 억제 효과	24
3. 통계처리	25

III. 실험결과 및 고찰 26

1. 원료콩의 이화학적 특성	26
1.1. 백립종	26
1.2. 외형적 특성	28
2. 콩, 메주, 된장의 이화학적 특성	30
2.1. 일반성분	30
2.2. 색도	33
2.3. 80% 메탄올 추출물 갈색도	35
2.4. 무기질 성분	37
2.5. 유리아미노산 함량	40
2.6. GABA 함량	44
2.7. pH, 총산도, 완충능	46
2.8. 된장의 염도	48
2.9. 환원당 함량	50
2.10. 아미노태질소 함량	52
3. 생리활성 성분	54
3.1. 80% 메탄올 추출 및 수율	54
3.2. 기능성 성분 분석	56
3.2.1. Isoflavone 함량	56

3.2.2. 총 폴리페놀 함량	58
3.2.3. 총 플라보노이드 함량	60
3.3. 항산화 활성	62
3.3.1. DPPH 및 ABTS 유리기 소거 활성능	62
3.4. ACE 저해 활성	66
3.5. 산화적 스트레스 보호 효과	68
3.5.1. V-79 세포의 생존율	68
3.5.2. 산화적 스트레스 보호 효과	70
3.6. 대장암세포(HT-29) 성장 억제 효과	72
 IV. 요약 및 결론	 74
 참고문헌	 77
Abstract	87

표 목차

Table 1.	Operating condition of ICP-AES for mineral analysis . . .	12
Table 2.	Operating condition of free amino acids	14
Table 3.	Operating condition of isoflavone	19
Table 4.	Seed characteristics of soybean on different seeding times .	29
Table 5.	Proximate compositions in soybean, Meju and Doenjang in different seeding times	32
Table 6.	Hunter color values of soybean, Meju and Doenjang in different seeding times	34
Table 7.	Absorbance at 420nm for brown color of soybean, Meju and Doenjang of 80% MeOH extracts in different seeding times	36
Table 8.	Mineral compositions in soybean, Meju and Doenjang in different seeding times	38
Table 9.	Free amino acids of soybean, Meju and Doenjang in different seeding times	40
Table 10.	GABA content of soybean, Meju and Doenjang in different seeding times	45
Table 11.	pH, total acidity and buffer capacity of soybean, Meju and Doenjang in different seeding times	47
Table 12.	Salt contents of Doenjang in different seeding times	49
Table 13.	Reducing sugar contents of soybean, Meju and Doenjang in different seeding times	51
Table 14.	Amino type nitrogen contents of soybean, Meju and Doenjang in different seeding times	53
Table 15.	Yields of freeze-drying and 80% MeOH extracts of soybean, Meju and Doenjang in different seeding times	55
Table 16.	Isoflavone contents of soybean, Meju and Doenjang in different seeding times	57
Table 17.	Contents of total polyphenol of 80% MeOH extracts from soybean, Meju and Doenjang in different seeding times	59

Table 18. Contents of total flavonoid of 80% MeOH extracts from soybean, Meju and Doenjang in different seeding times	61
Table 19. DPPH radical scavenging activity and ABTS radical scavenging activity of 80% methanol extracts from soybean, Meju and Doenjang in different seeding times	64
Table 20. Vitamin C equivalent antioxidant capacity of 80% methanol extract from soybean, Meju and Doenjang in different seeding times	65
Table 21. Angiotension I-converting enzyme (ACE) inhibitory activity of 80% methanol extract from soybean, Meju and Doenjang in different seeding times	67

그림 목차

Figure 1. Preparation of Doenjang	7
Figure 2. 100-seed weight of soybean in different seeding times	27
Figure 3. Effect of 80% methanol extract from soybean, Meju and Doenjang on cell viability in V79-4 cells	69
Figure 4. Protective effect of methanol 80% extracts from soybean, Meju and Doenjang against H_2O_2 -induced cell death	71
Figure 5. Effect of 80% methanol extract from soybean, Meju and Doenjang on cell viability in HT-29	73

I. 서론

콩(*GlycinemaxMerr L*)은 동북아시아 일대가 원산지로서, 우리나라에서는 각종 장류, 콩나물, 두부 등 콩을 다양하게 이용하는 대두 문화가 형성되어 왔다. 콩은 단백질 함량(40%)과 지방질 함량(20%)이 높고, 특히 단백질 중 제한 아미노산인 lysine이 풍부하고, 불포화 지방산이 많이 함유되어 있어 영양적 가치가 매우 우수한 작물이다. 이 외에도 vitamin과 각종 무기질도 함유하고 있고 최근에는 isoflavone, saponin, 올리고당 등 생리활성 물질을 함유하고 있어 기능성 작물로 주목받고 있다. 특히 콩 발효 식품은 조미료의 역할 뿐만 아니라, 생리활성 기능이 강화 되는 것으로 밝혀져 관심이 커지고 있다.

메주는 된장, 간장, 고추장 등 우리나라 전통 발효 식품인 장류의 원료로 사용하는 대두 발효 식품이다. 콩을 원료로 한 메주는 전통 장류 제조에 중요한 starter이며, 된장 등 장류의 풍미와 위생적인 품질 지표를 결정하는 원료 소재이다(Kim 등 1993, Lee 등 1997a, Oh & Park 1997, Choi 등 2007). 메주는 지역, 용도, 제조 방법, 형태 등에 따라 구분되며 전통메주, 개량식 메주로 구분 되고 있다. 개량식 메주는 증자한 콩에 *Aspergillus* 속의 국균을 접종하여 밀가루를 섞어 발효한 것이고, 전통메주는 대두를 주원료로 하여 수세, 수침, 자숙 및 성형 등의 과정을 거친 후 1~2개월간 볏짚을 깔고 그 위에 올리거나 혹은 볏짚으로 묶어 자연 발효시켜 만들며 콩, 볏짚, 공기 중의 곰팡이, 효모, 세균 등의 미생물이 자연적으로 접종되어 발효된다(Yoo 등 1998, Park 등 2002). 전통메주는 (8~12)×(12~18)×(15~25) cm로 크기가 다양하고, 구형, 원추형, 도너츠형 등 모양도 다양하나 가장 많이 이용되는 형태는 8×12×20 cm의 직육면체(벽돌형) 모양이다(김 등 2006). 또한 전통메주는 건조 중에 표면과 내부의 수분 증발의 차이로 수분활성도의 차이를 나타내며 이로 인해 건조

한 표면과 수분이 남아있는 내부의 균이 다른 것으로 알려져 있는데, 표면에는 Mucor속, Rhizopus속, Aspergillus 속이 주류를 이루고, 내부에는 Bacillus속 세균이 주류라고 알려져 있다(Kim 등 2000). 이들 균의 발효를 통해 전통 장류 특유의 맛과 향을 내며, 이러한 미생물 외에도 원료콩의 특성과 발효 중의 다양한 환경이 메주의 품질 특성에 영향을 미치는 것으로 알려져 있다(Yoo 등 1998, Kim 1978, Rahardjo 등 2005).

된장은 콩을 주원료로 한 대표적인 전통 발효 식품으로 우리 음식과 식문화의 뿌리이며, 우리 식탁에서 빼놓을 수 없는 조미료이다.

된장의 종류에는 장을 담근 후, 장물은 간장으로 쓰고 건더기를 쓰는 전통된장과 메주에 소금물을 알맞게 부어 장물을 떠내지 않는 개량식 된장, 두 방법을 절충한 절충식 된장 등이 있다(Heo 2007). 특히 전통된장은 지방에 따라 약간의 제조방법의 차이는 있으나 대두를 삶아서 찌고, 성형하여 발효시킨 메주를 소금물에 담가 발효, 숙성시켜 만든다. 장기간 숙성되는 동안 복잡한 발효과정을 거치면서 단백질, 지방, 탄수화물이 분해되어 된장 특유의 향미를 지니게 된다. 된장 특유의 맛은 콩의 주요 성분인 단백질이 숙성 과정 중 가수분해 되어 생성되는 아미노산 또는 펩타이드에서 오는 구수한 맛, 소금에서 오는 짭맛 그리고 탄수화물의 분해물인 유리당의 단맛, 발효 중 생성되는 유기산에서 오는 신맛 등 여러 맛 성분들의 조화를 이루어 나타나게 된다(Kim 1990, Jung 등 1994, Seo 2001). 된장의 맛, 향과 색 등 품질을 결정하는 주요한 인자는 원료, 제조 방법, 사용 균주로 크게 나눌 수 있으며, 가장 중요한 요인은 콩, 소금, 물 등 된장 제조에 사용하는 원료라고 할 수 있다(Lee 2009). 그 중 콩은 양질의 단백질과 지방, 탄수화물의 영양성분과 더불어 이소플라본, 사포닌 등 기능성 성분을 함유하고 있으며, 이러한 성분들이 된장의 여러 기능적 특징을 나타내는데 중요한 역할을 한다.

콩과 콩 발효식품의 생리활성은 아직 자세한 생성 기작이 규명되지 않았

고 주로 원료, 메주 및 된장의 발효에 관여하는 미생물이 생산하는 2차 대사 산물에 의한 것으로 추측되고 있고(Lee 등 1997b), phenolic acid, 이소플라본, peptides 등에 의해 유리기 소거능 억제효과(Newmak 1987), 항산화제 효과를 나타낸다고 보고되었다(Naim 등 1976). 콩 자체의 기능성 물질에는 genistein 등을 이소플라본, 사포닌 β -sitosterol, 비타민 E와 불포화 지방산 등이 있다(Oh 등 2008). 특히 된장은 콩의 기능성 성분이 발효, 숙성되면서 항돌연변이, 항암, 면역 증진, 혈압 강하 및 고지혈증과 당뇨 개선 그리고 아질산염 소거능 효과 등이 뛰어나다고 밝혀지면서 단순 조미식품이 아닌 건강기능성 식품으로 재조명되고 있다(Shim 등 2008).

이처럼 장류 및 콩 가공 식품의 기능성이 알려지면서 관심과 수요가 크게 늘어나고 있으나, 국내 생산량으로는 식용 수요를 맞추지 못해 수입에 의존하고 있는 실정이다. 이에 따라 국산 콩 생산량을 늘리고 영양학적 가치뿐만 아니라 품질 면에서 우수한 국산 콩을 공급하는 것이 절실한 시점이며, 더불어 가공적성과 연계된 경쟁력을 갖춘 원료콩의 생산기술 연구의 필요성이 대두되고 있다(Shin 등 2010).

최근 연구에 따르면 콩의 영양성분(조지방, 조단백, 조회분, 조탄수화물 등) 및 생리활성 물질(이소플라본, 안토시아닌 색소 등)은 같은 품종일지라도, 콩을 재배하는 위도, 고도, 온도, 강수량, 일조량과 일교차 등 재배 환경에 따라 영향을 받는다고 보고되고 있다. 이러한 재배 환경의 차이가 물질 합성 반응 및 효소 활성화에 영향을 주어 콩의 영양성분, 기능성 물질의 함량 및 조성이 차이를 보이게 된다고 보고 하였다(Tsukamoto 등 1995, Lee 등 2003, Maestri 등 1998, Yi 등 2009, Ok 등 2008, Yun 등 2006, Hong 등 2010, Kim 등 2010, Kim 등 2006).

더불어, Seo 등 (2010)은 산지가 다른 원료콩으로 제조한 두부에서 원료콩의 이소플라본 함량과 지방산 함량이 두부로 이행되어, 원료콩의 산지에 따른 차이가 두부에서도 나타났다고 보고하였고, Kim 등 (2006)은 파

중시기가 늦은 콩나물 콩으로 제배한 콩나물의 부패립율과 불완전 발아율이 감소하였고, 수율은 증가하였다고 보고하였다.

이는 원료콩의 위도 차이 혹은 과중시기 등 중요한 재배 환경을 달리함에 따라 원료콩의 품질 특성이 변화하고, 이는 콩 가공품의 품질에도 영향을 미칠 것을 시사한다. 특히, 된장은 원료콩의 품질 특성에 따라 메주와 된장의 발효 및 품질이 좌우되므로, 원료콩의 품질 특성이 매우 중요하며, 이러한 원료콩의 품질 및 영양성분의 변화는 된장의 가공 품질에 영향을 미칠 것으로 사료되나 현재 이러한 연구는 매우 미미한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 과중시기가 다른 원료콩을 이용하여 전통메주와 된장을 제조한 후, 원료콩과 메주, 된장의 품질특성을 분석하여, 과중시기에 의한 원료콩의 품질 차이와 이러한 차이가 메주와 된장의 가공품질에 미치는 영향을 알아보고자 하였다. 더불어 기능성 성분의 차이를 비교함으로써 콩과 된장의 부가가치를 높이는 과중시기를 알아보고, 원료콩에서 메주와 된장으로의 발효과정을 통한 생리활성 변화를 살펴보고자 하였다.

II. 실험 재료 및 방법

1. 실험 재료

1.1 원료콩

본 연구에 사용한 원료콩은 대원품종으로 경남 하동 진교면에서 비닐멀칭으로 재배하여 2010년 5월 하순, 6월 중순, 6월 하순에 파종된 콩을 농촌진흥청에서 2011년 1월에 제공받아 실험에 사용하였다.

재배기간 중 적산온도, 총 일조량 및 총 강수량은 5월 하순에 파종한 경우 3079.7 °C, 692.1 hr, 1145.5 mm, 6월 중순에 파종한 경우 2649.6 °C, 554.4 hr, 1145.6 mm, 마지막으로 6월 하순에 파종한 경우는 2421.2 °C, 509.1 hr, 1091.6 mm였다.

본 논문에서는 5월 하순에 파종하여 수확한 콩은 5L, 6월 중순에 파종하여 수확한 콩은 6M, 6월 하순에 파종하여 수확한 콩은 6L로 표시하였다.

1.2 메주 제조

콩 7kg을 물에 세척한 후, 가마솥에 물 15 L를 넣고 6시간 동안 증자하였다. 그 후 콩을 채반에 건져 30분간 물을 제거한 후 으깨어 메주 틀에 넣고 성형한 후 일주일간 30 °C에서 건조시켰다. 그 후 25 °C의 공간에서 벗짚을 깔고 메주를 올린 뒤, 그 위에 다시 벗짚을 쌓은 후, 60일간 발효시켰다.

1.3 된장 제조

된장의 제조는 Fig. 1과 같다. 발효시킨 메주의 표면의 이물질을 제거한 후, 항아리에 메주 7kg에 15L의 17% 소금물을 넣어 60일간 숙성시켰다. 그 후 덩어리와 즙액 부분을 나누고, 덩어리를 으깨어 항아리에 담아 숙성시켰다.

본 연구에서는 된장은 덩어리를 항아리에 담은 날을 된장의 0일로 하고, 그 후 숙성시키면서 60일 간격으로 된장을 500g 씩 취하여 시료로 사용하였다.

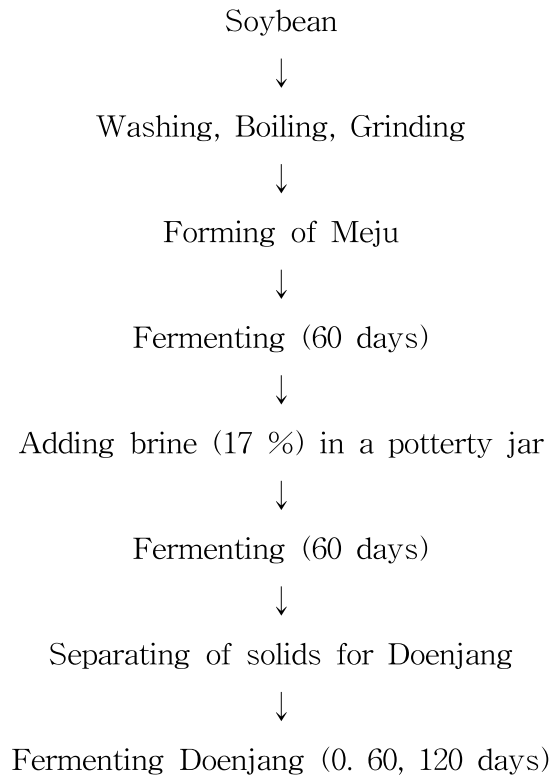


Fig.1. Preparation of Doenjang

2. 실험 방법

2.1 원료콩의 이화학적 특성 분석

2.1.1. 백립중

건전립 콩 100립을 취하여 10회 반복 측정한 후 평균값으로 나타내었다.

2.1.2. 외형적 특성

건전립 취하여 콩의 수직 길이(L: length), 장폭(W: width), 단폭(T : thickness) 및 배꼽 길이(Hilum)를 caliper로 이용하여 30회 반복 측정하여 평균값으로 나타내었다.

2.2. 콩, 메주, 된장의 이화학적 특성 분석

2.2.1. 일반성분 분석

2.2.1.1. 수분 정량

수분 함량은 105℃ 상압가열건조법(AOAC 1990)을 이용하여 측정하였다. 콩가루 1 g을 항량된 칭량접시에 넣은 다음, 105℃ dry oven(Daihan Scientific, Korea)에 넣어 24시간 건조시켰다. 건조가 끝나면 방냉·칭량 과정을 반복하여 항량을 한 후, 아래와 같은 식으로 수분을 정량하였다.

$$\text{수분(\%)} = (W_1 - W_2) / (W_1 - W_0) \times 100$$

W_0 : 칭량접시의 무게 (g)

W_1 : 시료와 칭량접시의 무게 (g)

W_2 : 건조 후 시료와 칭량접시의 무게 (g)

2.2.1.2. 조지방 정량

조지방 정량은 Soxhlet's 추출법(AOAC 1990)을 사용하여 측정하였다. 콩가루 1 g을 원통여지에 넣은 다음, 향량된 수기에 petroleum ether를 120 mL을 넣은 후 냉각관, 추출관, 수기를 연결하여 heating block에서 60~70℃ 정도로 12시간 가온하였다. 추출이 끝나면 수기만 따로 분리하여 105℃에서 2~3시간 건조한 후, 방냉·칭량하였다. 이 과정을 반복하여 향량하고, 아래와 같은 식으로 조지방을 정량하였다.

$$\text{조지방(\%)} = (W_1 - W_0) / S \times 100$$

W_1 : 지방 추출 후 건조한 수기의 중량 (g)

W_0 : 수기의 중량 (g)

S : 시료 채취량 (g)

2.2.1.3. 조단백 정량

조단백 정량은 분해·증류·중화·적정 네 단계를 거치는 Kjeldahl 질소 정량법(AOAC 1990)을 이용하여 측정하였다. 먼저 분해 과정을 위해 콩가루 1 g을 kjeldahl 플라스크에 넣은 다음, 분해 촉매제(Kjeltabs Se, Foss, Korea) 2개와 진한 H_2SO_4 12 mL을 가하여 잘 혼합하고 420℃로 설정된 분해 장치에서 2시간 동안 반응시켰다. 분해 액이 노란색의 투명한 용액으로 변하면 30분간 냉각시켜 분해를 완결하였다. 분해가 완료되면 시료는 auto kjeldahl system(Kjeltec1026, Foss Tecator, SE)에서 증류 및 중화한 후 0.1N HCl 표준용액으로 적정하였다. 시료를 제외한 공시험을 병행하였고 아래와 같은 식으로 조단백질 함량을 구하였다.

$$\text{조단백질 함량(\%)} = \{(B-M) \times 0.0014 \times f \times D \times N\} / S \times 100$$

B : Blank test의 0.1N-HCl 표준용액의 적정소비량 (mL)

M : 시료의 0.1N-HCl 표준용액의 적정소비량 (mL)

0.0014 : 0.1N-HCl 표준용액의 1mL에 상당하는 질소량 (g)

f : 0.1N-HCl 표준용액의 factor (1.000)

D : 회석배수

N : 질소계수 (6.25)

S : 시료의 채취량 (g)

2.2.1.4. 조회분 정량

조회분 함량은 550 °C 직접회화법(AOAC 1990)을 이용하였다. 항량된 도가니에 콩가루 1 g을 넣고 550 °C 회화로에서 24시간동안 회화하였다. 회화 후 방냉 · 칭량하여 항량될 때까지 이 과정을 반복하였고, 아래와 같은 식으로 조회분 함량을 계산하였다.

$$\text{조회분(\%)} = (W_2 - W_0) / (W_1 - W_0) \times 100$$

W₀ : 항량된 도가니의 중량 (g)

W₁ : 회화 전의 도가니와 시료의 중량 (g)

W₂ : 회화 후의 도가니와 재의 중량 (g)

2.2.1.5. 탄수화물 정량

콩가루의 수분, 조지방, 조단백, 조회분의 함량(%)을 빼서 탄수화물의 함량(%)을 구하였다.

$$\text{탄수화물(\%)} = 100\% - (\text{수분} + \text{조지방 함량} + \text{조단백 함량} + \text{조회분 함량})\%$$

$$= 100\% - (\text{수분} + \text{조지방 함량} + \text{조단백 함량} + \text{조회분 함량})\%$$

2.2.2. 색도 측정

색차계(CM-3500D, Minolta, Japan)를 이용하여 Hunter 체계에 따른 L(lightness), a(redness), b(yellowness) 값을 측정하였다. 측정 전 콩과 메주 시료는 분쇄하여 45 mesh의 체로 내렸고, 된장은 잘 으깨어 petri dish(Φ 3.5 cm)에 채운 후 5 kg의 힘을 가해준 것을 최종 시료로 하였다. 이 때 사용한 표준 백판은 $L=95.95$, $a=-0.11$, $b=-0.23$ 이었다.

2.2.3. 80% 메탄올 추출물의 갈색도 측정

동결 건조한 시료에 10배의 80% MeOH을 넣고 25 °C에서 200 rpm으로 4시간 동안 교반한 후 원심분리기(Combi 514R, Refrigerated Large Capacity Centrifuge, Hanil Science Industrial DO., LTD. Korea)를 이용하여 200 g에서 5분간 원심 분리하여 얻은 상층액을 최종 시료로 하여, microplate reader (SpectraMax, Molecular Divices)를 이용하여 420 nm에서의 흡광도를 측정하여 갈색도로 표시하였다.

2.2.4. 무기질 성분 분석

동결 건조한 가루 0.5 g을 50 mL 비커에 담아 60% HNO_3 10 mL과 60% HClO_4 5 mL을 넣고 유리판을 덮은 후, hot plate에서 100~105 °C부터 약 150 °C까지 온도를 높여가며 4시간 동안 가열분해 하였다. 액을 증발 농축시킨 뒤 질산 5 mL을 넣고 180 °C에서 1시간 더 가열하여 액이 투명해질 때까지 유기물을 완전히 분해하였다. 액을 냉각시키고 여과한 후 증류수를 첨가하여 최종부피를 15 mL로 정용하였다. 그 후 0.45 μm filter로 여과한 용액을 무기질 분석 시료로 사용하였고, 유도결합플라즈마 원자방출분광기(ICP-AES: Optima 4300DV, Perkin-Elmer, USA)를 이용하여 분석하였으며, 분석조건은 Table 1 과 같다.

Table 1. Operating condition of ICP-AES for mineral analysis

Instrument parameter	Condition
Model	OPTIMA 4300DV (Perkin-Elmer, Foster, CA, USA)
Instrument	Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometer
Gas	Ar gas
RF power	1.300 W
Nebulizer gas flow rate	0.45 L/min
Plasma	15 L/min
Auxially gas flow rate	0.2 L/min
Injection volume	1.5 mL/min

2.2.5. 유리아미노산 분석

동결 건조한 시료 1 g에 10배의 증류수를 가한 후 60 °C 항온수조에서 30분간 추출한 후 250 g에서 10분간 원심분리 하였다. 상층액 5 mL과 0.2N citrate buffer(pH 2.2) 5 mL을 넣어 교반한 후, 300 g에서 10분간 원심 분리하였다. 원심 분리한 상층액을 0.2 µm PTFE syringe filter로 여과하여 최종 유리아미노산 분석용 시료로 사용하였다. 시료와 아미노산 표준품은 borate buffer, Fluorenylmethyloxycarbonyl chloride(FMOC), o-phthaldialdehyde/3-mercaptopropionic acid (OPA/3-MPA) 시약과 혼합하여 유도체화 한 뒤, HPLC에 주입하였으며, 분석조건은 Table 2와 같다.

Table 2. Operating condition of free amino acids

Instrument parameter	Condition														
Model	Agilent 1200LC														
Detector	1. UV detector: 338nm 2. FL detector Excitation: 340nm, Emission: 450nm(OPA) Excitaiton: 266nm, Emission: 305nm(FMOC)														
Column	C18 column (4.6 x 150 mm, 5 μ m)														
Mobile phase	A: 20mM sodium phosphate monobasic (pH 7.8) B: water/acetonitrile/methanol, 10:45:45(v/v)														
Gradient	<table> <tr> <th>Time (min)</th><th>% B</th></tr> <tr> <td>0</td><td>0</td></tr> <tr> <td>24.0</td><td>57</td></tr> <tr> <td>24.5</td><td>100</td></tr> <tr> <td>26.0</td><td>100</td></tr> <tr> <td>26.5</td><td>0</td></tr> <tr> <td>30.0</td><td>0</td></tr> </table>	Time (min)	% B	0	0	24.0	57	24.5	100	26.0	100	26.5	0	30.0	0
Time (min)	% B														
0	0														
24.0	57														
24.5	100														
26.0	100														
26.5	0														
30.0	0														
Flow rate	1.5 mL/min														
Injection volume	0.5 μ l														
Temperature	Column: 40 °C Sample: 20 °C														

2.2.6 GABA 함량 분석

동결 건조한 분말을 이용하여 2.2.5과 동일한 방법으로 측정하였다.

2.2.7. pH, 총산도, 완충능

2.2.7.1 pH

시료 4 g에 40 mL의 증류수를 가한 후 200 rpm에서 10분간 진탕한 후 Watman No.1 filter paper로 여과한 여액을 pH meter (Mettler Toredon, Seven Easy pH meter)를 이용하여 pH를 측정하였다.

2.2.7.2 총산도

시료 4 g에 40 mL의 증류수를 가한 후 200 rpm에서 10분간 진탕한 후 Watman No.1 filter paper로 여과한 여액 25 mL에 0.1N NaOH로 적정하고 pH가 8.3에 도달하는데 필요한 0.1N NaOH 양을 측정하여 젖산의 양으로 환산하여 총산도를 나타내었다.

$$\text{총산도(\%)} = 0.009 \times V \times F \times D \times 100/S$$

V : 0.1N NaOH 용액의 적정소비량

F : 0.1N NaOH 용액의 역가

D : 희석배수

S : 시료채취량

0.009: 0.1N NaOH용액 1 mL에 해당하는 젖산의 양

2.2.7.3 완충능

시료 4 g에 40 mL의 증류수를 가한 후 200 rpm에서 10분간 진탕한 후

Watman No.1 filter paper로 여과한 여액 5 mL에 0.1N NaOH 3 mL을 넣어 측정된 pH와 측정 전 pH의 차를 이용하여 완충능을 구하였다.

2.2.8 된장의 염도 함량

된장의 염도 함량은 Mohr법(Hamilton LF 등 1964)으로 분석하였다. 시료 1 g을 증류수 50 mL로 희석한 후, Watman No.1 filter paper로 여과한 여액 10 mL에 2% $K_2Cr_2O_4$ 지시약 1 mL을 가하고 혼합하면서 0.1N $AgNO_3$ 용액으로 적갈색이 될 때까지 적정하여 염도 함량을 구하였다.

$$NaCl \text{ 함량}(\%) = 0.00585 \times V \times F \times D \times 100/S$$

V : 0.1N $AgNO_3$ 용액의 적정소비량

F : 0.1N $AgNO_3$ 용액의 역가

D : 희석배수

S : 시료채취량

0.00585 : 0.1N $AgNO_3$ 용액 1 mL에 해당하는 NaCl의 양

2.2.9. 환원당 함량

환원당 함량은 DNS(dinitrosalicylic acid)법에 의한 비색법으로 분석하였다. 동결 건조한 시료에 10배의 증류수를 가하여 희석한 후 300 g에서 5분간 원심 분리한 상층액을 시료로 사용하였다. 시료 0.1 mL을 취하여 시험관에 넣고, 여기에 3,5-dinitrosalicylic acid시약 0.4 mL를 첨가하여 잘 섞은 후, 90 °C 항온수조(BS-21, JEIO TECH, Korea)에서 10분 동안 끓인 후 바로 얼음에서 5분간 냉각시켜 반응을 정지시켰다. 발색된 용액을 분광광도계를 이용하여 570 nm에서 흡광도를 측정하여 환원당 함량을 구하였다. Glucose를 표준물질로 하여 1~5 mg/mL범위의 흡광도를 측정하고 그로부터 표준곡선을 구하였다.

2.2.10 아미노태질소 함량

아미노태질소 함량은 Formol 적정법에 의해 분석하였다. 시료 2 g을 취하여 100 mL를 가한 후 200 rpm으로 1시간동안 교반한 후, Watman No.1 filter paper로 여과한 여액을 25 mL 취한 후 0.1N NaOH용액으로 pH 8.3까지 적정한 후 중성 포르말린 용액 20 mL를 가하고 다시 0.1N NaOH용액으로 pH 8.3이 되도록 적정하였다. 증류수에 대한 바탕시험을 실시하여 아미노태질소 함량을 구하였다.

$$\text{아미노태질소 함량(\%)} = V \times F \times 0.0014 \times D \times 100/S$$

V : 0.1N NaOH 용액의 적정소비량

F : 0.1N NaOH 용액의 역가

D : 희석배수

S : 시료채취량

0.0014 : 0.1N NaOH용액 1 mL에 해당하는 질소량

2.3. 기량성성분 분석

2.3.1. 메탄올 추출 및 수율 계산

동결 건조한 분말 10 g에 80% 메탄올 100 mL을 넣고 교반기(Shaking incubator, SI-600R, Jeio Co LTD, Korea)를 이용하여 200 rpm으로 12시간동안 25 °C에서 교반하며 추출하였다. 추출액은 여과지(Whatman, No.1)로 거른 후, 남은 잔사는 동일한 방법으로 2회 반복 추출하여 총 300 mL의 메탄올 추출물을 얻었다. 추출물은 회전 진공농축기(Rotavapor, Buchi, Germany)로 감압·농축하여 동결 건조한 후 무게를 측정하여 수율을 구하였고, 건조한 추출물은 분말 형태로 -80 °C에 보관하면서 분석에 사용하였다.

2.3.2. 기능성 성분 분석

2.3.2.1. Isoflavone 함량

동결 건조한 시료 0.1 g을 취하여 1N HCl 3 mL을 넣고 100°C 항온수조에서 1시간동안 가수분해 시켰다. 이를 30분간 상온에서 냉각한 다음, methanol 7 mL을 추가하여 200 g에서 10분 동안 원심 분리하였다. 상층액 일부를 취하여 0.2 µm PTFE syringe filter로 여과하여 HPLC 분석 시료로 사용하였다. 분석조건은 Table 3과 같으며, 표준물질은 genistein과 daidzein을 1~100 µg/mL의 농도로 용해시켜 분석에 사용하였고, isoflavone 함량은 건조중량 1 g 당 µg함량으로 나타내었다.

Table 3. Operating condition of isoflavones

Instrument parameter	Condition
Model	HPLC system (Dionex, USA)
Detector	UV detector: 254 nm
Column	symmetry C ₁₈ (4.6 × 252 mm, Waters, Ireland)
Mobile phase	A: 0.1% acetic acid in water B: 0.1% acetic acid in acetonitrile (A: B= 65: 35, v/v)
Flow rate	1.0 mL/min
Injection volume	10 μ l

2.3.2.2. 총 폴리페놀 함량

총 폴리페놀 함량은 Folin-Ciocalteu 방법(Singleton 등 1965)을 변형하여 분석하였다. 메탄올 추출물을 50 mg/mL 농도로 녹인 시료 40 μ L에 증류수 160 μ L을 가한 다음, 2N Folin-Ciocalteu phenol reagent(Sigma Chemical Co., USA) 200 μ L을 넣은 후 교반하여 반응시켰다. 5분 후, 7% Na_2CO_3 용액을 200 μ L 가한 다음 상온에서 2시간동안 반응시켜 분광광도계(DU 530 spectrophotometer, Beckman, USA)를 이용하여 765 nm에서 흡광도를 측정하였다. Gallic acid(Sigma Chemical Co, USA)를 표준물질로 사용하였으며, 0~1000 μ g/mL 농도로 녹여 표준 검량 곡선을 작성하였고, 총 폴리페놀 함량은 추출물 100 g에 대한 mg gallic acid equivalents(GAE)로 환산하여 표시하였다.

2.3.2.3. 총 플라보노이드 함량

총 플라보노이드 함량은 Meda A 등(2005)의 연구를 참고 변형하여 Dowd법으로 측정하였다. 메탄올 추출물을 50 mg/mL 농도로 녹인 시료 700 μ L에 10% AlCl_3 700 μ L를 가하여 실온에 30분간 방치하고 분광광도계(DU 530 spectrophotometer, Beckman, USA)로 415 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다. 총 플라보노이드 함량은 추출물 중량 100 g에 대한 mg quercetin equivalents(QE)로 환산하여 표시하였다.

2.3.3. 항산화 활성 측정

항산화 활성은 80% MeOH 추출물을 50% MeOH에 녹여 시료로 하였다.

2.3.3.1. DPPH 유리기 소거 활성능

산화적 스트레스의 원인이 되는 유리 라디칼의 소거 활성을 측정하기 위하여 각각의 시료의 DPPH(α, α -diphenyl-picrylhydrazyl) 라디칼에 대한 소거 활성능을 측정하였다. 25 mg/mL의 농도로 녹인 시료 40 μ L에 0.2 mM DPPH용액 160 μ L를 가하여 30분간 빛을 차단한 상온에서 반응시킨 후, 분광광도계를 사용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 측정된 흡광도를 다음의 식에 대입하여 DPPH 유리기 소거 활성능을 계산하였다.

$$\text{Radical scavenging activity(\%)} = \left(1 - \frac{A}{B}\right) \times 100$$

A : 추출물 첨가구의 흡광도

B : 추출물 무첨가군의 흡광도

2.3.3.2. ABTS 유리기 소거 활성능

ABTS(2,2'-azobis-(3-ethyl-benzothiazoline-6-sulfonic acid)) 유리기 소거 활성능은 Van den Berg 등(2000)의 방법을 참고하여 측정하였다. 먼저 PBS(100 mM potassium phosphate buffer, pH 7.4)에 녹인 1.0 mM AAPH(2,2'-azobis(2-methylpropion-amidine)dichloride)와 2.5 mM ABTS를 1:1로 섞어 68 $^{\circ}$ C 항온수조에서 1시간정도 반응시켜 ABTS 유리기를 생성하였다. 분광광도계를 이용하여 734 nm 파장에서 흡광도를 측정하였을 때, 흡광도가 0.70 ± 0.02 가 되도록 PBS로 희석하거나 항온수조에서 반응시켰다. 25 mg/mL의 농도로 녹인 시료 20 μ L에 ABTS용액 980 μ L을

넣어 37 °C 항온수조에서 10분간 반응시킨 후, 734 nm에서 흡광도를 측정하였다. 측정된 흡광도를 다음의 식에 대입하여 ABTS 유리기 소거 활성능을 계산하였다. 또한 양성 대조군으로 L-ascorbic acid를 사용하여 0~250 µg/mL 범위에서 표준검량곡선을 작성한 후, L-ascorbic acid의 활성에 대비하여 상대적인 항산화력을 알아보았다. 항산화력은 Vitamin C equivalent antioxidant capacity(mg VCEAC/g, dry basis)로 환산하여 나타내었다.

$$\text{Radical scavenging activity(\%)} = (1 - \frac{A}{B}) \times 100$$

A : 추출물 첨가구의 흡광도

B : 추출물 무첨가군의 흡광도

2.3.4. ACE 저해 효과 측정

과중시기가 다른 콩, 메주, 된장 시료의 ACE 저해능은 Kwon 등의 방법을 변형하여 측정하였다. 추출물 100 µL에 0.1 M sodiumborate buffer 200 µL을 넣은 후, 25 mM HHL용액 (N-Hippurly-his-Leu hydrate)을 100 µL 넣고 섞은 후, 37 °C에서 5 분간 반응시켰다. 반응액에 0.2 mU ACE 효소액 100 µL을 넣고 섞은 후, 37 °C에서 30분간 반응 시키고 1N HCl 500 µL을 넣어 반응을 정지시켰다. 0.2 µm PTFE syringe filter로 여과한 후 HPLC(Dionex, US/SUMMIT PHCL system, USA)에 주입하여 분석하였다. 컬럼은 Nova-pack C₁₈ (3.9 × 150 mm, Waters, Ireland)을 사용하였고, 이동상은 A를 10 mM phosphoric acid(pH 2.5), B를 Methanol로 사용하여 A: B의 초기 비율을 100: 0으로 시작하여 8분에 40: 60, 13분에 0: 100, 18분에 100: 0의 비율로 단계적인 Gradient system을 사용하여 0.8 mL/min 로 흘려주었다. 시료는 20 µL 주입하여 228 nm 파장에서 UV-detector로 측정하였다. 표준물질은 Hippuric acid를 10~100 µg/mL의 농도로 용해시켜 분석에 사용하였으며, 대조군으로 콩과 메주는

50% MeOH을, 된장은 염의 함량을 반영한 50% MeOH을 사용하였다. 각 대조군의 Hippuric acid 양을 100으로 하여 샘플의 hippuric acid 양의 억제 효과를 %로 나타내었다.

2.3.5. 산화적 스트레스 보호 효과 측정

2.3.5.1. 정상세포의 생존율

콩, 메주, 된장 추출물이 정상세포의 생존율에 미치는 영향을 알아보기 위해 정상세포주인 Chinese hamster lung fibroblast인 V79-4 세포에 MTT (3-(4,5-dimethylthiazolyl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide) assay를 실시하였다. 시료는 추출물을 50% MeOH에 녹인 후 배지에 희석하여 시험액으로 하였고, 대조군은 콩, 메주 추출물의 경우 50% MeOH을 0.1% 함유한 배지를, 된장 추출물의 경우는 동일한 염을 함유한 배지를 대조군으로 사용하였다.

적절히 배양된 V79-4 세포를 5×10^4 cells/mL 농도로 96 well plate에 분주한 다음, 37 °C, 5% CO₂ 환경에서 24시간동안 배양하였다. 배양된 세포의 배지를 제거한 후, 추출물을 농도별로(50, 100, 250, 500 µg/mL) 처리하였다. 48시간 배양한 다음 5 mg/mL 농도의 MTT 시약을 10 µL/well 분주하고 다시 4시간동안 배양한 후, 배지를 제거하고 DMSO(Dimethyl Sulfoxide)를 100 µL씩 넣어 37 °C 인큐베이터에 30분간 보관하며 보라색 formazan을 녹였다. ELISA microplate reader(Bio-rad, Benchmark, USA)를 이용하여 570 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다. 결과는 대조군의 흡광도를 100으로 하여 %로 나타내었다.

2.3.5.2. 산화적 스트레스에 대한 세포 보호 효과

산화적 스트레스를 받은 V79-4 세포에 대한 콩, 메주, 된장 추출물의

보호효과를 MTT assay를 사용하여 측정하였다. 2.3.5.1과 같은 방법으로 V79-4 세포를 분주하여 24시간 동안 배양한 후 배지를 제거한 다음 추출물을 100, 250 $\mu\text{g/mL}$ 농도로 처리하였다. 다시 1시간 배양 후, 1mM Hydrogen peroxide(H_2O_2 3%, Sigma chemical Co., USA)를 50 μL 씩 분주하여 세포에 산화적 스트레스를 유발시켰다. 다시 24시간 배양한 후, 2.3.5.1 과 같은 방법으로 MTT assay를 실시하여 570 nm 파장에서 흡광도를 측정하였으며, Hydrogen peroxide(H_2O_2)를 처리하지 않은 세포에 대한 % 생존율로 나타내었다.

2.3.6. 대장암세포의 증식 억제 효과 측정

추출물의 항암효과를 알아보기 위해 적절히 배양된 대장암세포(HT-29)를 1×10^4 cells/mL 농도로 96 well plate에 분주한 후, 37 $^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 환경에서 24시간 동안 배양하였다. 세포의 배지를 제거하고 추출물을 5, 50, 500, 5000 $\mu\text{g/mL}$ 농도로 시료를 처리하였다. 48시간동안 배양한 후, 2.3.5.1 과 같은 방법으로 MTT assay를 실시하여 570 nm파장에서 흡광도를 측정하였다. 콩과 메주 추출물의 대조군은 50% MeOH을 0.1% 함유한 배지만 처리하였으며, 된장 추출물의 경우, 된장의 염과 동일한 NaCl을 갖는 배지를 대조군으로 하였다. 결과는 대조군의 흡광도를 100으로 하여 %로 나타내었다.

3. 통계처리

평가 결과의 통계처리는 SPSS(Statistics Package for the Social Science, Ver.19.0) 프로그램을 이용하여 분산분석(ANOVA)을 실시하였으며, 유의적인 차이가 있을 경우 Duncan의 다중 범위 시험법(Duncan's multiple range test)으로 통계적 유의성을 검증하였다.

Ⅲ. 결과 및 고찰

1. 원료콩의 이화학적 특성

1.1. 백립중

백립중은 콩 종실의 크기를 나타내는 기준으로, 소립중(백립중 15 g 이하), 중립중(15~24 g), 대립중(24 g 이상)으로 분류한다. 본 연구에서 파종시기에 따른 대원콩의 백립중은 Fig. 2와 같다. 두류 품종 총람에 따르면 대원콩은 대립중에 속한다고 하였으며, 5L은 23.62 g, 6M은 25.46 g, 6L은 25.24 g으로 나타났다.

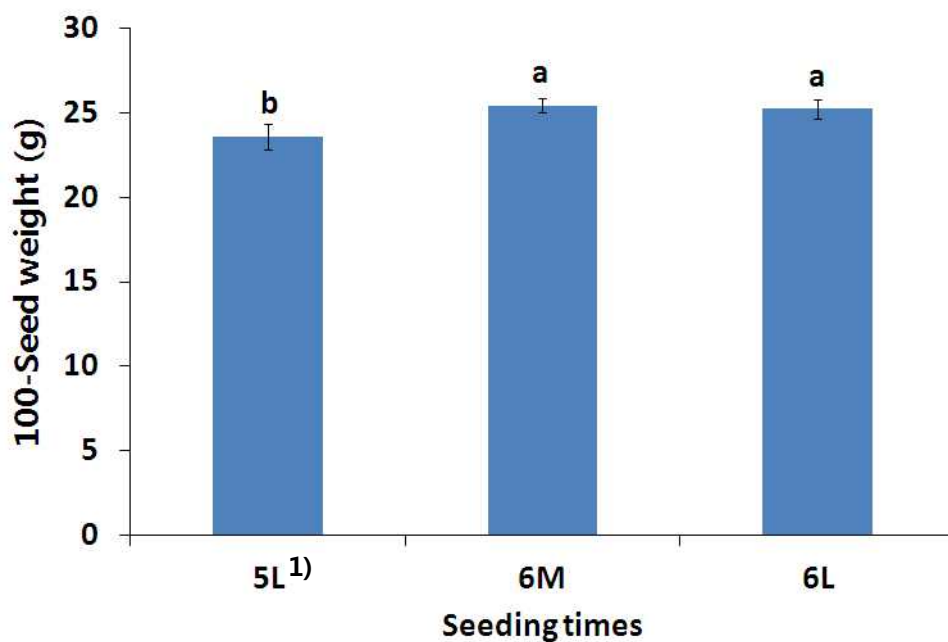


Fig.2. 100-seed weight of soybean in different seeding times

Results are shown as mean±SD

¹⁾5L: Soybean at May-late seeding, 6M: Soybean at June-Mid seeding, 6L: Soybean at June-late seeding

1.2. 외형적 특성

외형특성을 알아보기 위해 콩의 수직 길이(L: length), 폭(장폭, W: width), 두께(단폭, T: thickness) 및 배꼽 길이(H: hilum)를 측정하였고, 이를 이용하여 G값과 R값을 구하였다. G값은 콩의 수직 길이와 장폭의 비율(L/W)로 이들의 수치가 작을수록 종실이 원형에 가깝다고 한다(Kim 2008). 콩의 단폭과 두께의 길이에 대한 비율(T/W)을 나타내는 R값은 1에 가까울수록 둥글둥글한 콩이고, 0에 가까울수록 납작한 콩이다(Kim 등 2003).

파종시기가 다른 원료콩의 외형적 특성은 Table 4와 같으며, 콩의 모든 수직 길이, 폭, 두께 및 배꼽길이 모두 5L이 유의적으로 작게 측정되었다. 그러나 콩의 장폭 비를 나타내는 G값과 폭과 두께의 비를 나타내는 R값은 유의적인 차이가 없는 것으로 나타나, 파종시기가 이를수록 종실의 크기가 작은 것으로 판단된다.

Table 4. Seed characteristics of soybean on different seeding times

Seeding times	Seed size(mm)				G(L/W)	R(T/W)
	Length(L)	Width(W)	Thickness(T)	Hilum(H)		
5L ¹⁾	7.34±0.64 ^{b2)}	7.17±0.53 ^b	6.25±0.59 ^b	2.85±0.26 ^b	1.18±0.07	1.15±0.05
6M	7.86±0.53 ^a	7.58±0.44 ^a	6.63±0.43 ^a	3.01±0.25 ^a	1.19±0.08	1.14±0.05
6L	7.70±0.51 ^a	7.45±0.45 ^a	6.56±0.37 ^a	3.03±0.19 ^a	1.17±0.06	1.14±0.04

Results are shown as mean±SD

¹⁾ 5L: Soybean at May-late seeding, 6M: Soybean at June-Mid seeding, 6L: Soybean at June-late seeding

²⁾ Different superscripts within columns are significantly different at $p<0.05$ by Duncan's multiple range test

2. 콩, 메주, 된장의 이화학적 특성

2.1. 일반성분

식품성분표(2006)에 따르면 콩에는 수분 9.70%, 단백질 36.20%, 지방 17.80%, 회분 5.60%, 탄수화물 30.70% 정도 함유되어 있다고 한다. 또한 전통식품 기준규격에서 메주는 수분 20%이하, 조단백질 35% 이상(건조물 기준), 조지방 15% 이상으로 규격을 정하고 있고, 된장은 수분 55%이하(냉장 제품은 58% 이하)로 규정하고 있다.

파종시기에 따른 콩, 메주, 된장의 일반성분은 Table 5와 같다. 수분함량은 파종시기에 따라 콩과 된장에서 유의적인 차이를 보이지 않았고, 된장은 숙성기간이 길어짐에 따라 수분함량이 유의적으로 감소하였다($p<0.05$).

조단백 함량은 콩에서는 파종시기에 따라 유의적인 차이를 보이지 않았고, 메주에서는 6L의 조단백 함량이 유의적으로 높게 나타났으나 된장에서는 반대 경향을 보였다($p<0.05$).

조지방 함량은 콩, 메주, 된장 모두에서 파종시기에 따라 5L이 유의적으로 낮게 나타났고, 된장은 숙성기간이 길어질수록 조지방 함량이 증가하였는데 이는 수분 감소에 따른 증가라고 사료된다(Park 등 1995). 조지방과 조단백 함량은 온도가 높아질수록 증가하며, 특히 조지방 함량은 온도와 정의 상관관계를 가진다고 보고하였다(Wolf RB. 1982).

조탄수화물 함량은 콩에서는 파종시기에 따른 유의적인 차이가 없었으나 메주에서는 5L이 유의적으로 높게 측정 되었다. 된장의 숙성기간이 길어질수록 조탄수화물 함량도 유의적으로 증가하였다.

조회분 함량은 파종시기에 따른 유의적인 차이는 없었으며, 콩의 조회분 함량은 기후나 품종보다는 토양의 종류 및 산출력(fertility)의 영향을 더 받는다고 보고되었다(Harue 등 1971). 된장 제조시 염에 첨가에 의한 영향으로 된장의 조회분 함량이 콩과 메주에 비해 증가한 것으로 사료되

며, 된장의 숙성기간에 따라 수분함량이 감소하면서 조회분 함량이 증가하는 것으로 사료된다.

Table 5. Proximate compositions in soybean, Meju and Doenjang in different seeding times

(unit: %, wet basis)

	Seeding times	Soybean	Meju	Doenjang (Days)		
				0	60	120
Moisture	5L ¹⁾	6.23±0.10	9.63±0.10 ^b	60.66±0.66 ^x	55.48±0.27 ^y	54.86±0.08 ^y
	6M	6.27±0.12	10.53±0.49 ^a	60.79±0.51 ^x	55.01±0.72 ^y	55.41±0.46 ^y
	6L	6.15±0.08	9.47±0.14 ^b	60.68±0.28 ^x	55.86±0.47 ^y	55.52±0.26 ^y
Crude protein	5L	38.38±0.49	39.14±0.34 ^b	12.57±0.17 ^{az}	12.89±0.12 ^{by}	13.61±0.15 ^{ax}
	6M	38.89±0.06	42.94±0.64 ^a	12.19±0.09 ^{by}	13.16±0.13 ^{ax}	12.90±0.22 ^{bx}
	6L	39.37±0.47	43.03±0.06 ^a	12.28±0.13 ^{by}	12.89±0.10 ^{bx}	13.01±0.17 ^{bx}
Crude lipid	5L	12.43±0.75 ^b	14.20±0.22 ^b	7.03±0.19 ^{by}	7.55±0.04 ^x	7.63±0.36 ^{bx}
	6M	14.36±1.12 ^a	17.84±0.22 ^a	7.15±0.25 ^b	7.73±0.72	7.77±0.90 ^b
	6L	15.92±0.31 ^a	17.33±0.64 ^a	7.98±0.15 ^{ay}	8.22±0.71 ^x	8.38±0.48 ^{ax}
Carbohydrates	5L	34.09±0.77	31.56±0.23 ^a	5.81±0.27 ^y	7.71±0.09 ^x	8.17±0.18 ^x
	6M	35.10±1.38	23.27±0.75 ^c	6.02±0.62 ^y	8.13±0.52 ^x	8.83±0.97 ^x
	6L	36.61±0.75	24.91±0.72 ^b	5.44±0.30 ^y	7.32±0.97 ^x	7.63±0.37 ^x
Crude ash	5L	5.38±0.07	5.47±0.18	13.92±0.66 ^y	16.37±0.20 ^{ax}	15.73±0.65 ^x
	6M	5.29±0.18	5.41±0.06	13.61±0.68 ^y	15.98±0.31 ^{abx}	15.29±0.80 ^x
	6L	5.42±0.12	5.26±0.15	13.30±0.11 ^y	15.70±0.11 ^{bx}	15.46±0.65 ^x

Results are shown as mean±SD

¹⁾ 5L: Soybean at May-late seeding, 6M: Soybean at June-Mid seeding, 6L: Soybean at June-late seeding

²⁾ a-c: Different superscripts within columns are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test
x-z: Different superscripts within rows are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test

2.2. 색도

콩과 메주, 된장의 색도는 외관상 품질을 평가하는데 중요한 요인 중의 하나이며, 파종시기에 따른 콩, 메주, 된장의 색도를 측정한 결과는 Table 6과 같다. 명도는 콩에서는 6L이 유의적으로 높게 측정되었으나, 메주와 된장에서는 5L이 유의적으로 높게 측정되었다.

적색도와 황색도는 콩에서 6L이 유의적으로 낮게 측정되었으나, 메주와 된장에서는 유의적으로 높게 측정되었다.

된장의 숙성기간이 길어짐에 따라, 명도와 황색도는 감소하고, 적색도는 증가하는 경향을 보였다. 이는 발효와 숙성 중 Maillard 반응과 효소적 갈변반응에 의해 갈색 색소가 많이 생성되기 때문이며, 이러한 갈변반응은 산소, 금속이온, 각종 염, 온도 및 균주 등의 영향을 받는다고 보고되고 있다(Kim 등 1983). 본 연구에서도 콩의 색보다 발효된 메주의 색이 된장의 색을 결정하는 것으로 사료된다.

Table 6. Hunter color values of soybean, Meju and Doenjang in different seeding times

	Seeding times	Soybean	Meju	Doenjang (Days)		
				0	60	120
L*	5L ¹⁾	82.00±0.21 ^{c2)}	58.87±0.05 ^a	37.99±0.10 ^{ax}	33.60±0.09 ^{az}	33.97±0.09 ^{ay}
	6M	82.46±0.19 ^b	49.88±0.06 ^c	34.49±0.18 ^{cx}	29.02±0.26 ^{by}	27.17±0.07 ^{cz}
	6L	82.81±0.27 ^a	58.66±0.11 ^b	36.91±0.29 ^{bx}	33.75±0.15 ^{ay}	33.29±0.21 ^{bz}
a	5L	0.07±0.03 ^a	4.29±0.03 ^c	7.03±0.1 ^{bz}	7.86±0.06 ^{ax}	7.72±0.10 ^{by}
	6M	0.08±0.03 ^a	4.64±0.03 ^b	6.68±0.06 ^{cy}	6.68±0.09 ^{by}	6.87±0.09 ^{cx}
	6L	0.02±0.04 ^b	4.89±0.05 ^a	7.58±0.12 ^{ay}	7.89±0.06 ^{ax}	7.94±0.05 ^{ax}
b	5L	14.97±0.27 ^a	14.23±0.06 ^b	12.22±0.08 ^{bx}	12.16±0.04 ^{bx}	12.05±0.13 ^{by}
	6M	14.83±0.20 ^a	13.22±0.04 ^c	11.24±0.09 ^{cx}	10.50±0.12 ^{cy}	10.10±0.07 ^{cz}
	6L	14.44±0.12 ^b	15.96±0.06 ^a	12.68±0.14 ^{ax}	12.33±0.08 ^{ay}	12.28±0.14 ^{ay}

Results are shown as mean±SD

* L(lightness), a(redness), b(yellowness)

Results are shown as mean±SD

¹⁾ 5L: Soybean at May-late seeding, 6M: Soybean at June-Mid seeding, 6L: Soybean at June-late seeding

²⁾ a-c: Different superscripts within columns are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test

x-z: Different superscripts within rows are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test

2.3. 80% 메탄올 추출물의 갈색도

된장은 오랜 숙성과정 중 미생물이 생성하는 protease 작용으로, 단백질이 분해되어 생성된 가용성 질소 화합물인 펩톤, 펩타이드, 아민 등과 amylase 작용으로 당질이 분해되어 생성된 다량의 환원당 간의 Maillard 반응에 의해 갈변물질(Maillard reaction products; MRPs) 생성량이 증가되는 것으로 알려져 있다(Park 등 2005, Jing 등 2008).

80% 메탄올로 추출한 콩, 메주, 된장의 갈색도를 420nm에서 측정한 결과는 Table 7과 같다. 콩은 파종시기에 따라 0.32~0.40의 흡광도 값을 보여줬으며 6L이 유의적으로 낮게 측정되었으나 된장에서는 반대되는 경향을 나타내었다. 또한 숙성기간이 길어질수록 갈색도의 함량이 유의적으로 증가하였다. 이는 메주와 된장에서의 발효의 정도에 따라 80% MeOH에 추출되는 갈색물질의 함량이 변했기 때문으로 사료된다.

Lee 등(1991)의 연구에서 된장은 메주와 달리 수용성, 지용성 갈변물질이 모두 숙성 기간이 길어질수록 증가하여 높은 값을 나타낸다고 보고하여 본 연구와 유사한 결과를 나타냈다.

Table 7. Absorbance at 420nm for brown color of soybean, Meju and Doenjang of 80% MeOH extracts in different seeding times

Seeding times	Soybean	Meju	Doenjang (Days)		
			0	60	120
5L ¹⁾	0.36±0.03 ^{b2)}	0.40±0.00	0.39±0.02 ^{cy}	0.51±0.00 ^{bx}	0.51±0.03 ^{bx}
6M	0.32±0.01 ^c	0.37±0.00	0.50±0.02 ^{az}	0.65±0.02 ^{ay}	0.77±0.02 ^{ax}
6L	0.40±0.00 ^a	0.40±0.02	0.44±0.03 ^{bz}	0.51±0.00 ^{by}	0.56±0.02 ^{bx}

Results are shown as mean±SD

¹⁾ 5L: Soybean at May-late seeding, 6M: Soybean at June-Mid seeding, 6L: Soybean at June-late seeding

²⁾ a-c: Different superscripts within columns are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test

x-z: Different superscripts within rows are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test

2.4. 무기질 성분

무기질의 함량은 메주 및 장류의 발효 인자 또는 제품 물리성의 영향인 자로의 의미가 크며(Hwang 2002), 파종시기가 다른 콩, 메주, 된장의 무기질 함량 분석은 Table 8과 같다.

Ca은 244~302 mg/100g로 파종시기에 따른 유의적인 차이가 없었으며, 콩에서 된장으로 발효됨에 따른 차이도 미미하였다.

Mg은 콩은 214~224 mg/100g로 유의적인 차이가 없었고, 메주도 콩과 비슷한 함량인 219~232 mg/100g이었다. 그러나 된장에서는 그 함량이 445~557 mg/100g까지 증가하였으며 이는 천일염에 함유된 마그네슘에서 유래되었을 것으로 사료된다.

P는 식물세포 내에서 각종 효소의 기능 및 활성에 영향을 미치는 인자로 알려져 있으며, 메주와 된장에서 6M이 유의적으로 높게 측정되었고, 콩에서 된장으로 진행됨에 따라 그 함량이 감소하는 경향을 나타내었다.

Na의 함량은 파종시기에 따라 콩과 메주에서 6M이 유의적으로 낮게 측정되었으나 된장에서는 파종시기에 따른 차이를 나타내지 않았고, 그 함량이 급증하였다. 이는 된장을 만드는 과정 중에 첨가된 천일염의 영향일 것으로 사료된다.

K은 효소 활성에 관여하는 인자로 알려져 있으며, 콩과 된장에서 파종시기에 따른 유의적인 차이를 보이지 않았고 P와 유사하게 콩에서 된장으로 진행됨에 따라 감소하는 경향을 나타냈다.

미량무기질인 Cu, Zn, Fe, Mn 등은 콩에서는 파종시기에 따른 유의적인 차이를 보이지 않았으나, 된장 숙성기간 중에 차이를 나타내었고, 특히 Jung 등 (1997)은 Fe은 된장의 산화 갈변과 관계가 크다고 하였다.

파종시기에 따른 무기질 함량의 차이는 원료콩의 파종시기에 따른 영향 보다는 첨가된 소금량 및 증발량의 차이, 항아리의 영향 등 환경적인 영향일 것으로 사료된다.

Table 8. Mineral compositions in soybean, Meju and Doenjang in different seeding times

(unit: mg/100g, dry basis)

	Seeding times	soybean	Meju	Doenjang (Days)		
				0	60	120
Ca	5L ¹⁾	267.80±15.07	299.83±13.42	251.55±14.18	265.85±25.19	248.96±14.58
	6M	244.17±22.22	290.77±3.12	302.91±23.07	289.72±15.44	278.94±12.92
	6L	239.59±9.54	273.07±4.35	282.08±17.19	264.41±24.20	252.60±13.85
Mg	5L	224.16±10.81	232.34±10.47	445.95±24.78	507.27±47.89	443.68±20.05
	6M	222.06±20.49	231.63±3.10	531.56±40.82	557.72±25.10	513.80±21.15
	6L	214.13±7.30	219.69±3.45	492.08±27.52	490.35±46.31	456.05±22.07
P	5L	620.39±17.77	491.47±11.03 ^{b2)}	332.12±11.70 ^b	367.09±34.14	326.08±10.56 ^b
	6M	612.62±38.81	685.50±3.43 ^a	416.52±21.67 ^a	437.06±18.53	402.07±15.53 ^a
	6L	593.68±0.000	639.80±3.73 ^a	362.18±14.40 ^b	351.50±30.33	333.95±15.92 ^b
Na	5L	12.86±0.77 ^b	11.64±0.20 ^b	11584.11±137.94 ^x	11216.98±172.75 ^{xy}	10770.86±138.19 ^y
	6M	10.76±0.25 ^c	11.02±0.25 ^b	11943.03±595.53	12108.81±508.91	11369.76±117.87
	6L	17.62±0.40 ^a	12.39±0.19 ^a	10811.22±10.27	11626.37±4.19.94	10406.81±444.48
K	5L	1640.32±44.39	1382.97±10.78 ^b	841.39±25.97	935.67±36.75	876.20±79.44
	6M	1776.85±88.26	1719.64±95.27 ^a	864.76±14.88	863.52±10.44	812.22±24.06
	6L	1511.49±121.88	1688.38±70.78 ^a	762.00±55.01	796.44±54.92	804.78±117.50

Cu	5L	2.24±0.24	4.31±0.02 ^a	1.58±0.00 ^{ay}	1.59±0.01 ^{ay}	1.68±0.04 ^{ax}
	6M	1.82±0.01	3.06±0.11 ^b	1.31±0.01 ^c	1.10±0.02 ^c	1.15±0.02 ^c
	6L	1.87±0.06	1.49±0.01 ^c	1.49±0.04 ^{bx}	1.30±0.01 ^{by}	1.28±0.01 ^{by}
Zn	5L	3.68±0.78	4.59±0.02	2.52±0.06	2.82±0.04 ^a	2.69±0.14 ^a
	6M	2.90±0.27	4.13±0.22	2.57±0.22	2.57±0.06 ^a	2.16±0.11 ^b
	6L	3.02±0.11	4.22±0.18	2.49±0.13	2.18±0.15 ^b	2.29±0.01 ^b
Fe	5L	8.48±2.11	19.77±0.05 ^a	11.94±0.05 ^{bx}	11.44±0.12 ^{bx}	11.10±0.40 ^{by}
	6M	8.46±0.21	9.87±0.37 ^b	14.71±0.23 ^a	13.34±0.23 ^a	14.53±0.16 ^a
	6L	8.36±0.57	19.34±0.22 ^a	5.49±0.13 ^{cz}	5.89±0.01 ^{cy}	6.24±0.01 ^{cx}
Mn	5L	1.79±0.26	2.17±0.01	1.41±0.01 ^{bx}	1.43±0.00 ^{bx}	1.38±0.01 ^{by}
	6M	1.73±0.07	2.25±0.10	1.72±0.06 ^a	1.74±0.04 ^a	1.67±0.04 ^a
	6L	1.79±0.06	2.18±0.05	1.48±0.01 ^{bx}	1.35±0.03 ^{by}	1.35±0.00 ^{by}

Results are shown as mean±SD

¹⁾5L: Soybean at May-late seeding, 6M: Soybean at June-Mid seeding, 6L: Soybean at June-late seeding

²⁾ a-c: Different superscripts within columns are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test

x-z: Different superscripts within rows are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test

2.5. 유리아미노산

파종시기에 따른 콩, 메주, 된장의 유리아미노산은 총 19종류가 검출되었으며, 그 함량은 Table 9와 같다.

콩의 유리아미노산 함량은 Arg>Asp>Glu 순으로 많이 함유되어 있었고, 메주는 Glu>Lys>Asp 순으로 많이 함유되어 있었으며, 된장은 숙성기간에 관계없이 Glu>Leu>Lys 으로 함유량이 많았다.

tyrosine, methionin, histidine, lysine, tryptophan과 같은 아미노산은 어떤 경우 pro-oxidative 효과를 가지긴 하나, 일반적으로 항산화 활성을 가진다고 보고되었다(Chen 등 1996). 파종시기에 따라 콩, 메주, 된장에서 lysine의 함량이 5L이 낮게 나타났고, 메주와 된장의 lysine 함량은 콩보다 풍부한 것으로 나타났다. 또한 된장의 숙성기간이 길어질수록 lysine의 함량이 증가하여 lysine이 항산화 효과에 기여할 것으로 사료된다.

이 외에도 장류의 주요한 감칠맛을 내는 glutamic acid도 변화를 나타냈는데 파종시기에 따라서는 6L이 유의적으로 높고, 6M이 유의적으로 낮게 나타났으며, 숙성기간이 길어짐에 따라 함량이 유의적으로 증가하였다. 단맛을 내는 proline의 함량은 6M이 유의적으로 높게 나타났고, 된장의 숙성기간이 길어질수록 증가하였다.

Table 9. Free amino acids of soybean, Meju and Doenjang in different seeding times

(unit: mg/100g, dry basis)

	Seeding times	Soybean	Meju	Doenjang (Days)		
				0	60	120
Asp	5L	26.87±0.20 ^b	24.15±0.11 ^b	65.12±2.42 ^{bx}	44.03±0.25 ^{bz}	53.43±0.33 ^{bx}
	6M	29.89±0.25 ^a	51.63±0.64 ^a	94.58±2.22 ^{ay}	87.50±1.22 ^{az}	105.36±1.95 ^{ax}
	6L	26.24±0.35 ^c	18.59±0.51 ^c	9.93±0.11 ^{cz}	34.68±0.13 ^{cy}	53.81±0.80 ^{bx}
Glu	5L	23.95±0.41 ^a	83.31±0.21 ^b	253.04±4.15 ^{bz}	362.78±1.82 ^{cy}	448.67±4.82 ^{bx}
	6M	20.12±0.17 ^b	71.54±1.96 ^c	235.61±6.03 ^{cz}	378.35±10.40 ^{by}	454.10±4.19 ^{bx}
	6L	23.39±0.11 ^a	145.34±0.64 ^a	311.58±2.26 ^{az}	417.00±1.27 ^{ay}	477.67±8.56 ^{ax}
Asn	5L	13.97±0.03 ^a	7.30±0.41 ^a	9.06±0.32 ^{bz}	41.93±0.53 ^{cy}	55.92±2.29 ^{bx}
	6M	12.34±0.05 ^c	4.80±0.25 ^b	8.36±0.39 ^{bz}	43.84±0.13 ^{by}	51.21±0.15 ^{cx}
	6L	12.54±0.09 ^b	8.10±0.25 ^a	32.39±0.22 ^{az}	62.64±0.78 ^{ay}	74.81±0.94 ^{ax}
Ser	5L	4.49±0.02 ^a	8.11±0.18 ^b	51.24±1.17 ^{cz}	66.74±0.46 ^{cy}	95.60±1.80 ^{cx}
	6M	3.75±0.01 ^c	7.87±0.21 ^b	86.13±2.29 ^{az}	135.06±3.46 ^{ay}	167.67±2.96 ^{ax}
	6L	4.16±0.08 ^b	10.04±0.33 ^a	62.33±0.64 ^{bz}	92.14±0.46 ^{by}	116+.54±1.74 ^{bx}
Gln	5L	1.96±0.01 ^a	9.55±0.12 ^b	33.63±0.72 ^{bx}	19.83±0.30 ^{by}	16.56±0.52 ^{bz}
	6M	1.57±0.05 ^b	6.48±0.98 ^c	64.85±1.65 ^{ax}	49.21±0.84 ^a	27.60±0.25 ^{az}
	6L	2.01±0.04 ^a	11.90±0.37 ^a	27.70±0.43 ^x	19.43±0.72 ^{by}	13.32±0.49 ^{cz}
His	5L	6.37±0.13 ^a	7.18±0.23	23.52±0.14 ^{bz}	31.29±83 ^y	42.21±1.01 ^{ax}
	6M	5.05±0.30 ^c	9.46±1.65	30.87±1.80 ^{ax}	25.84±2.69 ^z	27.99±3.01 ^{cy}
	6L	5.76±0.07 ^b	7.01±0.46	25.54±0.06 ^{bz}	32.92±1.64 ^y	37.01±0.42 ^{bx}

Gly	5L	3.74±0.01 ^a	5.89±0.27 ^a	30.42±0.59 ^{bz}	49.78±0.87 ^{by}	67.63±0.83 ^{bx}
	6M	2.88±0.01 ^c	4.15±0.09 ^b	27.25±0.31 ^c	44.59±1.04 ^{cy}	59.58±0.42 ^{cx}
	6L	3.08±0.04 ^b	3.48±0.07 ^c	41.09±0.34 ^z	68.94±0.23 ^{ay}	84.85±1.61 ^{ax}
Thr	5L	3.01±0.01 ^a	4.99±0.12 ^b	14.96±0.19 ^{cz}	36.71±0.13 ^{cy}	58.17±1.75 ^{cx}
	6M	2.44±0.04 ^b	4.18±0.34 ^c	63.40±1.52 ^{az}	101.24±3.42 ^{ay}	122.56±0.81 ^{ax}
	6L	2.89±0.07 ^a	6.31±0.23 ^a	26.43±0.04 ^{bz}	64.20±0.30 ^{by}	84.04±0.91 ^{bx}
Arg	5L	70.85±0.46 ^b	2.40±0.08	9.37±0.49 ^{bz}	32.07±0.08 ^{bx}	21.72±0.40 ^{by}
	6M	67.56±0.76 ^c	4.15±1.03	13.41±0.43 ^{az}	36.83±0.43 ^{ax}	23.53±0.66 ^{ay}
	6L	82.29±0.81 ^a	2.62±0.22	8.09±0.23 ^{cz}	14.36±0.42 ^{cx}	12.00±0.20 ^{cy}
Ala	5L	13.07±0.08 ^a	34.02±0.83 ^b	130.48±2.73 ^{bz}	219.37±1.56 ^{by}	255.83±2.41 ^{ax}
	6M	10.53±0.11 ^c	38.70±0.62 ^a	89.99±2.24 ^{cz}	168.32±4.71 ^{cy}	206.61±1.83 ^{bx}
	6L	11.82±0.14 ^b	31.06±1.29 ^b	181.82±1.82 ^{az}	233.80±0.71 ^{ay}	258.66±5.72 ^{ax}
Tyr	5L	2.70±0.02 ^a	11.98±0.25 ^b	79.48±1.77 ^{bz}	106.26±1.85 ^{ay}	119.95±1.23 ^{ax}
	6M	2.13±0.13 ^b	16.25±0.088 ^a	90.44±2.59 ^{ax}	62.66±0.52 ^{bz}	74.34±4.31 ^{by}
	6L	2.54±0.05 ^a	15.37±0.62 ^a	10.09±0.16 ^{cz}	31.46±0.85 ^{cy}	46.76±1.39 ^{cx}
Val	5L	3.76±0.10 ^b	10.27±0.22 ^c	78.48±2.26 ^{bz}	109.55±1.67 ^{cy}	124.54±2.23 ^{bx}
	6M	3.40±0.01 ^c	11.57±0.01 ^b	80.65±1.68 ^{bz}	128.27±0.90 ^{by}	148.88±0.38 ^{ax}
	6L	4.09±0.11 ^a	13.33±0.40 ^a	102.55±0.25 ^{az}	137.59±0.30 ^{ay}	153.64±2.80 ^{ax}
Met	5L	2.34±0.05 ^a	6.01±0.01 ^b	24.58±0.55 ^{bz}	32.49±0.88 ^{by}	43.66±0.39 ^{bx}
	6M	1.87±0.06 ^b	5.02±0.18 ^c	24.10±1.67 ^{bz}	33.95±1.14 ^{by}	42.39±1.92 ^{bx}
	6L	2.38±0.08 ^a	8.90±0.30 ^a	31.21±1.53 ^{az}	44.68±0.11 ^{ay}	51.72±1.27 ^{ax}

Trp	5L	13.59±0.08 ^b	9.33±0.63	14.21±0.66 ^{cz}	18.01±0.33 ^{cy}	22.49±0.22 ^{cx}
	6M	13.60±0.06 ^b	12.50±0.88	18.53±0.78 ^{bz}	22.89±1.19 ^{by}	29.12±0.68 ^{bx}
	6L	15.98±0.22 ^a	9.56±1.04	22.12±1.03 ^{az}	28.65±0.07 ^{ay}	37.08±1.53 ^{ax}
Phe	5L	4.27±0.06 ^a	21.06±0.49 ^b	108.00±2.84 ^{cz}	147.20±1.32 ^{by}	171.85±1.85 ^{bx}
	6M	3.64±0.01 ^b	19.15±0.33 ^b	123.46±2.75 ^{bz}	179.12±2.79 ^{ay}	208.96±1.20 ^{ax}
	6L	4.38±0.09 ^a	30.03±0.87 ^a	139.98±0.83 ^{az}	180.25±1.02 ^{ay}	207.43±3.80 ^{ax}
Ile	5L	3.19±0.04 ^a	9.96±0.49 ^b	98.36±9.19 ^{bz}	120.23±0.83 ^{by}	139.06±1.51 ^{bx}
	6M	2.71±0.00 ^b	10.56±0.24 ^b	94.26±2.23 ^{bz}	149.10±4.27 ^{ay}	180.37±0.52 ^{ax}
	6L	3.27±0.06 ^a	12.66±0.30 ^a	120.05±0.47 ^{az}	156.87±0.17 ^{ay}	178.99±4.65 ^{ax}
Leu	5L	5.04±0.04 ^b	28.15±0.47 ^b	158.54±3.24 ^b	227.61±1.90 ^{cy}	268.67±2.74 ^{cx}
	6M	4.15±0.01 ^c	21.74±0.81 ^c	162.89±3.99 ^{bz}	267.78±4.41 ^{by}	315.04±1.80 ^{bx}
	6L	5.19±0.05 ^a	39.98±1.52 ^a	199.51±1.49 ^{az}	282.50±1.56 ^{ay}	327.35±3.97 ^{ax}
Lys	5L	4.42±0.23 ^b	38.86±3.92 ^b	126.86±2.89 ^{bz}	232.39±15.49 ^y	252.58±6.77 ^{cx}
	6M	3.57±0.04 ^c	49.05±3.43 ^a	129.97±7.46 ^{bz}	242.72±0.05 ^y	281.70±2.74 ^{bx}
	6L	5.40±0.37 ^a	44.54±1.36 ^{ab}	145.25±0.29 ^{az}	235.44±0.11 ^y	303.42±5.48 ^{ax}
Pro	5L	3.52±0.10 ^b	12.22±0.02 ^b	34.89±1.03 ^{bz}	72.66±1.16 ^{by}	90.65±1.22 ^{cx}
	6M	3.96±0.05 ^a	13.21±0.51 ^{ab}	45.41±0.71 ^{az}	99.20±0.97 ^{ay}	117.10±0.40 ^{ax}
	6L	3.33±0.07 ^b	14.45±0.49 ^a	45.30±1.46 ^{az}	74.81±0.30 ^{by}	99.22±0.59 ^{bx}
Total A.A	5L	212.86±1.15 ^a	333.96±9.14 ^b	1344.20±36.36 ^{bz}	1970.82±1.03 ^{by}	2349.15±33.88 ^{bx}
	6M	191.44±2.14 ^b	436.54±12.08 ^a	1478.09±41.88 ^{az}	2265.42±42.05 ^{ay}	2643.03±21.53 ^{ax}
	6L	224.46±2.45 ^a	359.42±12.17 ^b	1542.93±13.05 ^{az}	2212.31±0.55 ^{ay}	2618.27±32.97 ^{ax}

Results are shown as mean±SD

¹⁾5L: Soybean at May-late seeding, 6M: Soybean at June-Mid seeding, 6L: Soybean at June-late seeding

²⁾ a-c: Different superscripts within columns are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test

x-z: Different superscripts within rows are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test

2.6. GABA의 함량

γ -Aminobutyric acid(GABA)는 4개의 탄소로 구성되어 있고 자연계에 분포하는 비단백질의 일종으로 포유동물의 뇌나 척수에 존재하는 신경전달물질로 뇌 기능을 향상 시키고, 중성지방의 증가 억제, 혈당치의 상승 억제, 알코올 대사 촉진 등 다양한 효과가 있는 것으로 알려져 있다(Lim 등 2009). GABA는 콩 발효 식품 및 김치에서 분리한 유산균에 의해 고농도로 생산되는 것으로 알려져 있으며, 특히 이에 관여하는 유산균에는 *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus lactis* 등이 있다(Bown 1997).

과중시기에 따른 GABA의 함량은 Table 10과 같다. 콩과 메주에서 과중시기에 따라 5L이 유의적으로 높게 측정되었으나 된장에서는 6M이 낮은 경향을 나타냈으나 유의적인 차이는 없었다.

Jo 등 (2011)은 된장 0일의 GABA는 24.9 mg/kg의 함량을 나타냈다고 하였으며, 장기 숙성 동안 여러 가지 효소 반응에 의해 Glutamic acid가 분해되어 GABA의 생성이 증가하는 것으로 보고하였다. 본 연구의 결과와 비교해 볼 때, 본 연구의 된장의 GABA 함량이 더 높게 나타났으나, 숙성기간에 따른 변화는 관찰할 수 없었고, 이는 된장 제조방법 및 숙성 환경, 숙성기간에 의한 차이 때문인 것으로 사료된다.

Table 10. GABA content of soybean, Meju and Doenjang in different seeding times

(unit: mg/100g, dry basis)

Seeding times	Soybean	Meju	Doenjang (Days)		
			0	60	120
5L ¹⁾	16.93±0.10 ^{a2)}	9.30±0.21 ^a	7.54±0.21	8.18±0.52	7.53±0.28
6M	11.32±0.14 ^c	7.74±0.40 ^b	6.05±0.84	7.07±0.25	7.03±0.21
6L	15.75±0.16 ^b	5.40±0.61 ^c	6.79±0.06	9.18±0.59	7.86±0.12

Results are shown as mean±SD

¹⁾5L: Soybean at May-late seeding, 6M: Soybean at June-Mid seeding, 6L: Soybean at June-late seeding

²⁾Different superscripts within columns are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test

2.7. pH, 적정산도, 총산도, 완충능

과종시기가 다른 콩, 메주, 된장의 pH, 총산도, 완충능은 Table 11과 같다. pH는 원료콩에서는 차이가 없었으나, 메주와 된장에서는 6M이 높은 경향을 나타냈으며, 5L이 유의적으로 낮게 측정되었다. 또한 된장의 숙성기간이 길어질수록 pH가 유의적으로 낮아졌으며($p < 0.05$), 이는 발효과정에서 증식하는 젖산균과 같은 산생성균이나 국균 등의 작용으로 유기산이 증가하여 pH가 낮아지기 때문이다(Seo 등 1992, Kim 2005).

총산도는 신맛과 향미에 영향을 주는 인자로, 발효 식품에서 품질을 결정하는 지표로 사용된다(Joo 등 1997). 본 연구의 메주와 된장에서 총산도가 과종시기에 따라 유의적인 차이를 나타냈으며, 숙성기간이 길어질수록 총산도는 증가하였다.

완충능은 1/10N NaOH를 3 mL 넣었을 때 pH의 변화를 보는 것으로 완충능의 수치가 낮으면 실제 완충 작용은 큰 것을 의미한다고 한다(Kim 등 1995). 과종시기에 따른 콩, 메주, 된장의 완충능을 측정한 결과, 된장에서만 과종시기에 따른 차이를 나타냈으며, 숙성기간이 길어질수록 완충능의 수치가 유의적으로 낮게 측정되어, 숙성기간이 길어짐에 따라 완충작용이 커졌다($p < 0.05$).

Table 11. pH, total acidity and buffer capacity of soybean, Meju and Doenjang in different seeding times

(unit: wet basis)

	Seeding times	Soybean	Meju	Doenjang (Days)		
				0	60	120
pH	5L ¹⁾	6.70±0.01	6.37±0.01 ^{c2)}	5.13±0.02 ^{cx}	4.83±0.02 ^{cy}	4.73±0.01 ^{cz}
	6M	6.65±0.05	6.48±0.02 ^b	5.84±0.01 ^{ax}	5.24±0.03 ^{ay}	5.19±0.01 ^{az}
	6L	6.44±0.38	6.64±0.02 ^a	5.34±0.01 ^{bx}	5.95±0.01 ^{by}	4.91±0.02 ^{bz}
total acidity (%)	5L	0.96±0.03	1.23±0.04 ^a	0.97±0.01 ^{ay}	1.44±0.01 ^{ax}	1.43±0.02 ^{ax}
	6M	1.02±0.01	1.09±0.02 ^b	0.80±0.01 ^{cz}	1.24±0.05 ^{cy}	1.33±0.03 ^{bx}
	6L	1.01±0.04	1.31±0.07 ^a	0.87±0.02 ^{by}	1.31±0.02 ^{bx}	1.31±0.01 ^{bx}
buffer capacity (mL)	5L	5.25±0.01	5.08±0.38	6.75±0.02 ^{ax}	6.47±0.05 ^{ay}	6.48±0.07 ^{ay}
	6M	5.20±0.03	5.00±0.01	5.94±0.04 ^{cy}	6.08±0.02 ^{bx}	5.82±0.05 ^{cz}
	6L	5.22±0.01	4.73±0.02	6.45±0.03 ^{bx}	6.42±0.06 ^{ax}	6.05±0.04 ^{by}

Results are shown as mean±SD

¹⁾ 5L: Soybean at May-late seeding, 6M: Soybean at June-Mid seeding, 6L: Soybean at June-late seeding

²⁾ a-c: Different superscripts within columns are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test

x-z: Different superscripts within rows are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test

2.8. 된장의 염도

장류의 짠맛은 감칠맛, 신맛과 함께 된장의 맛을 구성하는 중요한 요인이며, 장류에 함유된 염은 된장에 짜고 개운한 맛을 부여하고 보존성도 관련이 있는 중요한 성분의 하나이다(Park 등 1997).

과중시기가 다른 콩으로 제조한 된장의 염도를 측정한 결과(Table 12), 6M이 유의적으로 높게 측정되었으며, 숙성기간이 길어질수록 염도의 함량이 증가하는 것으로 나타났다. 이는 숙성 중 수분증발에 의해 된장의 수분함량이 감소했기 때문으로 사료된다.

Table 12. Salt contents of Doenjang in different seeding times

(unit: %, wet basis)

Seeding times	Doenjang (Days)		
	0	60	120
5L ¹⁾	14.42±0.14 ^{z2)}	14.98±0.30 ^{cy}	16.09±0.09 ^{bx}
6M	14.20±0.40 ^z	17.14±0.15 ^{ay}	17.32±0.32 ^{ax}
6L	14.33±0.10 ^z	15.79±0.12 ^{by}	15.96±0.13 ^{bx}

Results are shown as mean±SD

¹⁾ 5L: Soybean at May-late seeding, 6M: Soybean at June-Mid seeding, 6L: Soybean at June-late seeding

²⁾ a-c: Different superscripts within columns are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test

x-z: Different superscripts within rows are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test

2.9. 환원당 함량

메주 중의 전분질이 amylase에 의해 분해되어 환원당을 생성하기 때문에 된장의 환원당은 amylase의 활성과 연관성이 높고, 생산된 당은 숙성되는 동안 알코올 발효 혹은 젖산 발효의 기질로 이용되기도 한다(Kim 2005).

과종시기가 다른 콩, 메주, 된장의 환원당 함량은 Table 13과 같다. 6M에 파종한 콩과 된장의 환원당 함량이 유의적으로 높게 나타났으며, 또한 숙성기간이 길어질수록 환원당 함량은 유의적으로 감소하였다($p < 0.05$). 이는 숙성기간이 길어지는 동안 메주 내에 존재하는 탄수화물이 amylase에 의해 분해되어 환원당이 생성되나, 숙성이 진행될수록 젖산균에 의한 젖산발효와 효모 등에 의한 알코올 발효에 의해 당이 소비되어 당의 함량이 감소한다는 보고와 일치하였다(Chang 1996).

Jung 등 (1994)는 메주된장의 경우 5~6%의 환원당 함량을 나타내었으나, 코오지 된장의 경우는 19~21%로 보고하여, 메주된장이 코오지 된장보다 적은 것으로 나타났다고 보고 했으며 이는 메주 중에 있는 여러 미생물 중 산성물질 생성균의 작용이 왕성하여 상대적으로 유기산 발효의 기질로 당의 소비가 많았기 때문이라고 보고하였다.

Table 13. Reducing sugar contents of soybean, Meju and Doenjang in different seeding times

(unit: %, dry basis)

Seeding times	Soybean	Meju	Doenjang (Days)		
			0	60	120
5L ¹⁾	2.27±0.08 ^{a2)}	3.20±0.07 ^c	2.86±0.21 ^{bx}	2.35±0.08 ^{by}	2.17±0.09 ^{by}
6M	2.28±0.04 ^a	4.10±0.08 ^b	3.92±0.12 ^{ax}	3.28±0.02 ^{ay}	3.03±0.01 ^{az}
6L	2.01±0.12 ^b	4.38±0.11 ^a	1.81±1.14 ^{cx}	1.06±0.02 ^{cy}	0.97±0.07 ^{cy}

Results are shown as mean±SD

¹⁾ 5L: Soybean at May-late seeding, 6M: Soybean at June-Mid seeding, 6L: Soybean at June-late seeding

²⁾ a-c: Different superscripts within columns are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test

x-z: Different superscripts within rows are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test

2.10. 아미노태질소 함량

아미노태질소 함량은 발효식품의 발효 정도를 판단하는 기준으로, 된장의 제조와 숙성 과정 중에 protease의 효소작용으로 콩 단백질이 아미노산으로 가수분해 되어 감칠맛을 내는 아미노산을 생성하기 때문에 숙성일이 증가할수록 증가하는 것으로 알려져 있다(Kim 등 2004, Park 1994).

Kim 등 (2010)은 콩의 아미노태질소 함량은 224~252 mg% 라고 하였으며, 한국 전통식품 규격에 따르면 메주의 아미노산성 질소는 110 mg% 이상, 된장은 300 mg% 이상으로 규정하고 있다.

본 연구의 파종시기에 따른 아미노태질소의 함량(Table 14)을 살펴보면, 콩이 239~274 mg%를 나타냈으며, 6M이 높게 측정되었다. 반면 메주는 494~632 mg%의 범위로 5L이 유의적으로 낮게 측정되었고, 된장의 아미노태질소 함량은 388~579 mg%의 범위를 나타내며 숙성 초기에 이미 전통식품 규격을 넘었음을 알 수 있었다. 된장은 메주와 마찬가지로 파종시기에 따른 차이에서 5L이 유의적으로 낮게 측정되었고, 숙성기간이 길어질수록 아미노태질소 함량이 유의적으로 증가하였다($p<0.05$).

Table 14 .Amino type nitrogen contents of soybean, Meju and Doenjang in different seeding times

(unit: mg%, wet basis)

Seeding times	Soybean	Meju	Doenjang (Days)		
			0	60	120
5L ¹⁾	239.19±2.02 ^c	500.30±7.00 ^b	388.91±2.02 ^{bz}	478.02±4.04 ^{cy}	520.69±4.02 ^{bx}
6M	274.24±5.35 ^a	632.17±2.02 ^a	445.96±7.27 ^{az}	509.42±2.67 ^{by}	579.81±3.49 ^{ax}
6L	249.62±2.02 ^b	494.54±8.80 ^b	439.11±2.01 ^{bz}	530.12±1.75 ^{ay}	577.61±2.01 ^{ax}

Results are shown as mean±SD

¹⁾ 5L: Soybean at May-late seeding, 6M: Soybean at June-Mid seeding, 6L: Soybean at June-late seeding

²⁾ a-c: Different superscripts within columns are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test

x-z: Different superscripts within rows are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test

3. 생리활성 성분 분석

3.1 80% 메탄올 추출 및 수율

기능성 성분 및 항산화 활성을 측정하기 위해 콩, 메주, 된장을 동결건조하여 수율을 계산하였고 동결 건조한 시료에 80% MeOH을 넣고 추출한 후, 농축하고 동결건조 한 결과 수율은 Table 15와 같다.

동결건조 수율은 파종시기에 따라 콩은 95~96%, 메주는 90~94%, 된장은 39~46 %에 의한 수율을 나타냈다.

80% MeOH에 의한 추출수율은 콩이 17~18%, 메주가 11~14% 이었고, 된장은 41~51%로 나타났으며, 된장은 가수분해에 의한 수용성 성분인 염 함량이 많아 수율이 높게 나타난 것으로 사료된다.

Table 15. Yields of freeze-drying and 80% MeOH extracts of soybean, Meju and Doenjang in different seeding times

(unit: %)

	Seeding times	Soybean	Meju	Doenjang (Days)		
				0	60	120
Freeze-drying yield	5L ¹⁾	95.25	93.63	40.08	46.33	44.70
	6M	95.36	94.15	39.86	46.30	45.80
	6L	96.45	90.19	39.25	44.80	43.30
80% MeOH extracts yield	5L	18.45	14.06	41.28	41.38	42.64
	6M	18.42	11.02	45.41	50.76	51.14
	6L	17.42	13.55	45.18	42.82	45.80

¹⁾ 5L: Soybean at May-late seeding, 6M: Soybean at June-Mid seeding, 6L: Soybean at June-late seeding

3.2. 기능성 성분 분석

3.2.1. 이소플라본 함량

이소플라본(Isoflavone)은 콩의 여러 가지 유용한 생리활성에 크게 기여하는 특징적인 성분으로 폐경기 증상을 완화시키고, 심혈관계 질환의 진전을 막으며 호르몬 의존성 암을 예방하는 효과가 있다(Maubach 등 2003).

대두 이소플라본은 포도당 잔기가 β -1, 4 glycoside 결합을 한 배당체 형태(daidzin, genistin)로 대부분 존재하나, 발효 과정을 거치면서 미생물이 함유한 β -glycosidase에 의해 당이 제거 되어 흡수율이 더 높은 aglycone 형태(daidzein, genistein)로 전환되며, 가공 과정 중에 침지 및 미생물에 의해 이소플라본이 분해되어 총량이 감소하는 경우도 있다(Lee 등 2006, Yeon 1998).

원료콩의 이소플라본 함량은 재배 온도가 올라갈수록 유의적으로 감소한다고 보고되었고(Tsukamoto 등 1995), 강우량이 많을수록 감소한다는 보고도 있으나(Yi 2009), 본 연구에서는 파종시기에 따른 원료콩의 이소플라본 함량을 보면(Table 16), 1247~1348 $\mu\text{g/g}$ 으로 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 반면, 메주와 된장에서는 5L이 유의적으로 높게 측정되었다. 원료콩보다 된장에서 이소플라본의 함량이 낮게 측정되었으며, 된장의 오랜 숙성과정 중에 유효성분이 감소한 것으로 사료된다. 이는 콩과 청국장에서 추출한 이소플라본의 양보다 된장에서 추출한 이소플라본 양이 감소했다는 보고와 일치하였다(Zheng 외 2005).

Wang 등 (1990)은 당이 이소플라본과 HPLC에서 측정할 수 없는 conjugate를 형성하여 실제 양보다 적게 측정될 수 있다고 보고하였으며, 본 연구에서 메주의 이소플라본 양이 된장보다 낮게 측정되었고, 메주의 환원당의 함량이 된장보다 높게 측정되어 당의 영향으로 이소플라본 함량이 적게 측정된 것으로 사료된다.

Table 16. Isoflavone contents of soybeans, Meju and Doenjang in different seeding times

(unit: $\mu\text{g/g}$, dry basis)

	Seeding times	Soybean	Meju	Doenjang (Days)		
				0	60	120
Daidzein	5L ¹⁾	706.05±41.37	540.56±42.79 ^{a2)}	606.04±14.46 ^{ax}	459.08±32.21 ^{by}	568.07±37.75 ^{ax}
	6M	759.32±23.79	409.75±11.41 ^b	532.42±19.43 ^{bx}	415.76±21.31 ^{by}	510.39±13.39 ^{bx}
	6L	718.24±25.73	456.34±35.87 ^b	586.26±3.69 ^{axy}	565.45±15.99 ^{ay}	621.34±28.05 ^{ax}
Genistein	5L	541.11±46.52	456.72±18.18 ^a	512.85±0.61 ^b	440.26±38.09 ^b	495.91±26.15 ^a
	6M	589.66±18.55	365.93±6.29 ^c	486.81±1.40 ^{cx}	366.79±33.80 ^{cy}	419.48±39.51 ^{bx}
	6L	581.61±7.95	421.63±17.29 ^b	541.49±1.73 ^{ax}	506.75±11.82 ^{ay}	541.01±6.08 ^{ax}
Total isoflavone	5L	1247.16±87.34	997.27±60.96 ^a	1118.59±13.85 ^{ax}	899.34±69.92 ^{by}	1063.98±53.98 ^{bx}
	6M	1348.97±39.74	775.69±7.25 ^c	1019.23±35.66 ^{bx}	782.55±46.88 ^{cy}	929.88±52.41 ^{cx}
	6L	1299.85±32.94	877.97±53.16 ^b	1127.74±5.22 ^{ax}	1072.20±27.80 ^{ay}	1162.35±31.85 ^{ax}

Results are shown as mean±SD

¹⁾ 5L: Soybean at May-late seeding, 6M: Soybean at June-Mid seeding, 6L: Soybean at June-late seeding

²⁾ a-c: Different superscripts within columns are significantly different at $p<0.05$ by Duncan's multiple range test

x-z: Different superscripts within rows are significantly different at $p<0.05$ by Duncan's multiple range test

3.2.2. 총 폴리페놀 함량

식물의 존재하는 페놀성 화합물은 2차 대사산물의 하나로 8,000 여 종류 이상이 밝혀져 있다. 이러한 페놀성 화합물은 phenolic hydroxyl (-OH)기를 가지기 때문에 단백질 및 기타 거대 분자들과 쉽게 결합할 수 있으며, 페놀 고리 구조의 공명 안정화 등과 같은 특징을 가져, 유리기 소거 활성능, 항산화 및 항암 효과 등 다양한 생리작용을 하는 것으로 알려져 있다(Hazra 등 2008, Okawa 등 2001, She 등 2009, Shahidi 등 1992, Jung 등 2004).

과종시기에 따른 콩, 메주, 된장의 80% 메탄올 추출물의 총 폴리페놀 함량은 Table 17과 같다. 과종시기에 따라 유의적인 차이를 나타내지 않았으나, 된장의 숙성기간이 길어질수록 총 폴리페놀 함량이 증가하는 것으로 나타났고, Rhee 등 (1985)은 숙성 과정에서 총 페놀성 화합물 함량이 증가한다고 보고하여 본 연구결과 유사한 경향을 나타냈다.

식물성 식품의 항산화 효과는 주로 페놀 화합물에 의한 항산화 효과를 나타내므로, 총 페놀 화합물 함량과 항산화 효과는 밀접한 관계를 갖고 있다고 보고하였다(Hayase 1993).

대두 중 주요 항산화 활성 원인 물질로 isoflavone과 phenolic acid들이 보고되고 있는데, isoflavone은 daidzin, geistin 및 gysitin-6-o-glucoside가 밝혀졌고, phenolic acids는 함량이 가장 높은 함량이 가장 높은 caffeic acid를 위시하여 6종이 분석되었다. 또한 genistein, daidzein 및 glycitein은 quercein보다는 약하지만 항산화 효력이 있고, chlorogenic acid와 caffeic acid는 이들보다 훨씬 강한 항산화 효력을 나타낸다고 보고하였다(Pratt 1979). Kim 등 1994는 재래식 방법으로 제조한 메주와 된장의 메탄올 추출물에서 컬럼크로마토그래피로 페놀화합물을 분리한 결과 vanillic acid, chlorogenic acid, syringic acid, p-counmalic acid, ferulic acid 및 caffeic acid 등이 함유되어 있다고 보고하였다.

Table 17. Contents of total polyphenol of 80% MeOH extracts from soybean, Meju and Doenjang in different seeding times

(unit : mg GAE/100g, 80% MeOH extracts)

Seeding times	Soybean	Meju	Doenjang (Days)		
			0	60	120
5L ¹⁾	1080.84±41.20	1368.26±32.88	736.23±30.97 ^y	961.86±4.38 ^x	940.90±10.75 ^x
6M	1013.65±35.24	1435.04±98.93	802.42±49.75 ^y	974.00±64.60 ^x	977.42±50.20 ^x
6L	1007.07±48.21	1408.58±76.31	745.10±83.32 ^y	891.57±64.11 ^x	946.67±36.14 ^x

Results are shown as mean±SD

¹⁾ 5L: Soybean at May-late seeding, 6M: Soybean at June-Mid seeding, 6L: Soybean at June-late seeding

²⁾ a-c: Different superscripts within columns are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test

x-z: Different superscripts within rows are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test

3.2.3. 총 플라보노이드 함량

플라보노이드는 페닐기 2개가 C3사슬을 매개하여 결합한 C6-C3-C6형 탄소골격구조로 되어 있고, 담황색 내지 노란색을 띠는 천연 폴리페놀화합물의 총칭으로 자연적으로 생성되는 가장 큰 그룹의 하나로써 야채류, 과일류, 종실류 등 식물계에 널리 분포되어 있으며, anthocyanins, chalcones, aurones, flavones, flavonols 및 이들의 유도체 등으로 나눌 수 있다(Herrmann 1976, Kuhnau 1976).

플라보노이드는 폴리페놀과 함께 식물에 존재하는 천연 항산화제로 작용할 수 있는 또 다른 항산화력의 지표로, 파종시기가 다른 콩, 메주, 된장의 80% 메탄올 추출물의 총 플라보노이드 함량을 분석한 결과는 Table 18과 같으며, 파종시기에 따른 총 플라보노이드 함량은 유의적인 차이를 나타내지 않았다.

Table 18. Contents of total flavonoid of 80% MeOH extracts from soybean, Meju and Doenjang in different seeding times

(unit: mg QE/100g, 80% MeOH extracts)

Seeding times	Soybean	Meju	Doenjang (Days)		
			0	60	120
5L	51.02±2.04	86.21±4.43	36.17±6.52	30.96±4.89	33.88±2.39 ^b
6M	48.70±0.23	81.75±5.32	33.32±2.42	33.05±2.68	39.86±3.67 ^a
6L	47.46±2.27	77.36±0.15	31.75±1.37	31.37±3.73	30.30±2.22 ^c

Results are shown as mean±SD

¹⁾ 5L: Soybean at May-late seeding, 6M: Soybean at June-Mid seeding, 6L: Soybean at June-late seeding

²⁾ a-c: Different superscripts within columns are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test

x-z: Different superscripts within rows are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test

3.3. 항산화 활성

3.3.1 DPPH 및 ABTS 유리기 소거 활성능

유리기 소거능은 phenolic acid와 flavonoid 등 페놀성 물질에 의한 항산화 작용의 지표로, 환원력이 큰 물질일수록 전자공여능이 높아진다고 보고되었으며, 전자 공여능이 높은 것은 유리기에 수소를 공여함으로써 지질과산화 저해뿐만 아니라 체내에서 발생하는 활성 산소종을 효과적으로 제거할 수 능력이 있다는 것을 의미한다(Shin 등 2005).

DPPH는 비교적 안전한 유리기를 지닌 항산화 활성 측정 방법으로 517nm 부근에서 최대 흡광도를 나타낸다. DPPH 유리기 소거활성은 Table 19와 같으며, 유리기 소거 활성능을 Vitamin C에 대비하여 vitamin C equivalent antioxidant activity(VCEAC)로 계산한 결과는 Table 20과 같다. 파종시기에 따라서 6M의 콩, 메주와 된장이 항산화 활성이 큰 것으로 나타났으며, 숙성기간이 길어질수록 항산화 활성이 증가하는 것으로 나타났다.

ABTS {2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt} 항산화 측정법은 혈장에서 ABTS^{•+}의 흡광도가 항산화제에 의해 억제되는 것을 기초로 하여 개발된 평가 방법으로, DPPH보다 항산화능을 측정하는데 적은 시간이 소모되며 pH의 변화에 민감하게 작용하지 않는 장점이 있다(Roberta RE 등 1999, Yoo 등 2007).

파종시기에 따라 ABTS 유리기 소거 활성능을 측정한 결과는 Table 19와 같고, 유리기 소거 활성능을 Vitamin C에 대비하여 vitamin C equivalent antioxidant activity(VCEAC)로 계산한 결과는 Table 20과 같다. 파종시기에 따라 콩은 5L이 유의적으로 높게 나타났으나, 메주와 된장은 6M이 높은 경향을 나타냈다. DPPH 실험과 달리 ABTS 실험에서 비교적 낮은 활성을 보인 것은 항산화 실험법마다 작용 기작이 달라 특정

물질에 대한 반응이 다르기 때문일 것으로 생각된다(Mun 등 2003, Huang 등 2005).

Table 19. DPPH radical scavenging activity and ABTS radical scavenging activity of 80% methanol extracts from soybean, Meju and Doenjang in different seeding times

(unit: %)

	Seeding times	Soybean	Meju	Doenjang (Days)		
				0	60	120
DPPH	5L ¹⁾	58.31±1.48 ^{c2)}	83.98±0.11	43.10±0.19 ^{cz}	45.32±0.30 ^{cy}	51.10±0.27 ^{bx}
	6M	68.38±0.16 ^a	83.83±0.39	47.38±0.25 ^{az}	53.79±0.08 ^{ay}	54.49±0.22 ^{ax}
	6L	62.05±1.86 ^b	81.33±1.97	45.33±0.19 ^{bz}	48.26±0.19 ^{by}	49.08±0.43 ^{cx}
ABTS	5L	53.51±1.46 ^a	50.35±2.15	30.70±1.93 ^{bz}	33.82±0.37 ^y	38.39±1.64 ^x
	6M	43.49±0.64 ^b	57.58±5.52	35.92±2.20 ^{ay}	35.51±0.28 ^y	42.30±1.60 ^x
	6L	42.61±1.59 ^b	52.55±1.90	26.81±0.44 ^{cz}	36.38±1.92 ^y	40.40±2.04 ^x

Results are shown as mean±SD

¹⁾ 5L: Soybean at May-late seeding, 6M: Soybean at June-Mid seeding, 6L: Soybean at June-late seeding

²⁾ a-c: Different superscripts within columns are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test

x-z: Different superscripts within rows are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test

Table 20. Vitamin C equivalent antioxidant capacity of 80% methanol extracts from soybean, Meju and Doenjang in different seeding times

(unit: mg VCEAC/g, dry basis)

	Seeding times	Soybean	Meju	Doenjang (Days)		
				0	60	120
DPPH	5L ¹⁾	1.34±0.03 ^{c2)}	1.88±0.01	1.02±0.00 ^{cz}	1.06±0.01 ^{cy}	1.19±0.01 ^{bx}
	6M	1.55±0.01 ^a	1.88±0.01	1.11±0.01 ^{az}	1.24±0.01 ^{ay}	1.26±0.00 ^{ax}
	6L	1.42±0.04 ^b	1.83±0.04	1.06±0.01 ^{bz}	1.13±0.01 ^{by}	1.13±0.01 ^{cx}
ABTS	5L	3.66±0.1 ^a	3.44±0.15	2.07±0.13 ^b	2.29±0.03	2.60±0.12
	6M	2.96±0.05 ^b	3.94±0.38	2.43±0.16 ^a	2.40±0.02	2.88±0.11
	6L	2.90±0.11 ^b	3.59±0.13	1.79±0.04 ^c	2.46±0.13	2.74±0.14

Results are shown as mean±SD

¹⁾ 5L: Soybean at May-late seeding, 6M: Soybean at June-Mid seeding, 6L: Soybean at June-late seeding

²⁾ a-c: Different superscripts within columns are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test

x-z: Different superscripts within rows are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test

3.4 ACE 저해능 측정

ACE는 불활성형의 angiotensin- I (decapeptide)의 C 말단에 존재하는 His-Leu를 절단하여 혈관벽 수축작용을 하는 angiotensin- II (octapeptide)을 생성하고 혈압을 감소시키는 bradykinin을 불활성화 시키는 효소이다(Noh H, Song KB 2001). ACE 저해제는 ACE의 작용을 저해함으로써 angiotensin- II의 생성 저해, aldosterone 분비 감소, 혈관확장제인 bradykinin의 증가 등의 과정을 통해 신장혈관을 확장시켜 sodium의 배설을 촉진함으로써 혈압을 낮추어 줄 수 있다(Kim SH. 1997, Oh SJ 등 1997).

과중시기에 따른 콩, 메주, 된장의 ACE 저해활성 보면(Table 21), 콩은 44.96~49.70 %의 저해율을 보였고, 과중시기에 따라 6L이 가장 낮았다. 그러나 메주는 66.04~70.83%의 저해율을 보였고, 6L이 가장 높은 저해율을 나타냈다. 된장은 54.49~63.33%의 저해율을 나타내었고, 숙성기간이 길어짐에 따라 ACE 저해활성이 증가하는 것으로 나타났다.

된장의 함유된 ACE 저해물질은 펩타이드 또는 단백질 가수 분해물로 알려져 있으며(Lee 등 2004, Kim 등 2004), 숙성 중에 메주에 함유되어 있던 단백질 분해효소 작용으로 된장의 단백질이 숙성기간 동안 다시 분해되기 때문에 숙성기간이 길어질수록 ACE 저해활성이 증가한다고 보고하였다(No 등 2006).

Table 21. Angiotension I-converting enzyme (ACE) inhibitory activity of 80% methanol extracts from soybean, Meju and Doenjang in different seeding times

(unit: %)

Seeding times	Soybean	Meju	Doenjang (Days)		
			0	60	120
5L ¹⁾	49.70±0.61 ^{a2)}	67.51±0.96 ^b	54.79±3.81	61.33±2.11	62.39±2.41
6M	47.93±1.30 ^a	66.04±0.65 ^b	54.49±2.40	56.95±3.74	63.33±0.42
6L	43.96±1.41 ^b	70.83±1.35 ^a	55.50±3.78	55.50±3.78	62.09±4.60

Results are shown as mean±SD

¹⁾ 5L: Soybean at May-late seeding, 6M: Soybean at June-Mid seeding, 6L: Soybean at June-late seeding

²⁾ Different superscripts within columns are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test

3.5. 산화적 스트레스 보호효과

3.5.1. V79-4의 생존율

MTT assay를 통해 6M의 콩, 메주, 된장 추출물의 chinese hamster lung fibroblast인 V79-4 세포에 대한 세포 성장 억제효과를 살펴본 결과는 Fig. 3과 같다. 50~500 $\mu\text{g/mL}$ 농도로 추출물을 처리한 결과, 모든 농도에서 큰 독성은 보이지 않았으나, 메주는 500 $\mu\text{g/mL}$ 에서 세포 생존율이 유의적으로 낮아 상대적으로 높은 세포 독성을 보였다. 세포의 생존율을 고려하여 최대한 독성의 영향을 받지 않도록 250, 100 $\mu\text{g/mL}$ 농도로 처리하여 산화적 스트레스 보호 효과를 측정하였다.

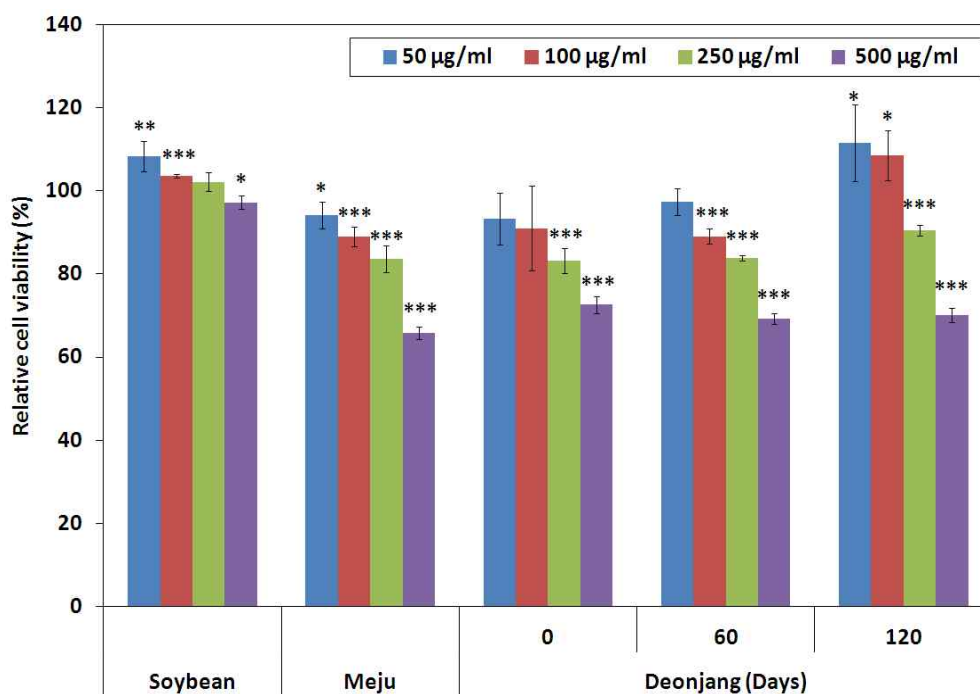


Fig. 3. Effect of 80% methanol extracts from soybean, Meju and Doenjang on cell viability in V79-4 cells

Results are shown as mean±SD

* significantly different from the values of control at $p < 0.05$, ** significantly different from the values of control at $p < 0.01$, *** significantly different from the values of control at $p < 0.001$

3.5.2. 산화적 스트레스에 대한 세포 보호 효과

H_2O_2 는 세포내에서 유전자 발현 변화를 조절하기도 하고, 세포의 행동, 운동, 모양 등을 조절하는 신호전달 물질로 작용한다. 하지만 구리(Cu^{2+})나 철(Fe^{2+})이온 존재 하에 hydroxyl radical로 전환되어 산화적 스트레스를 유발함에 따라 세포손상을 일으켜 퇴행성 신경질환, 암 등의 각종 질병을 일으키게 된다(Akiko 등 2010, Pavlica & Gebhardt 2010, Zaidi 등 2009).

본 연구에서는 6M의 콩, 메주, 된장 추출물이 H_2O_2 로 유발된 스트레스로부터 V79-4 세포를 보호하는 효과를 확인해보고자 MTT assay방법을 이용하여 정상군과 H_2O_2 처리군, 그리고 H_2O_2 와 추출물을 농도별로 처리한 실험 군을 비교하였다. 산화적 스트레스를 주지 않은 정상 군에 대비하여 생존율로 나타낸 결과는 Fig. 4와 같으며, H_2O_2 처리군의 세포생존율은 정상 군에 비해 50.99~50.11%로 떨어졌으나, 콩, 메주, 된장 추출물을 100, 250 $\mu g/mL$ 농도로 처리한 V79-4세포의 생존율은 회복되는 것을 확인할 수 있었다.

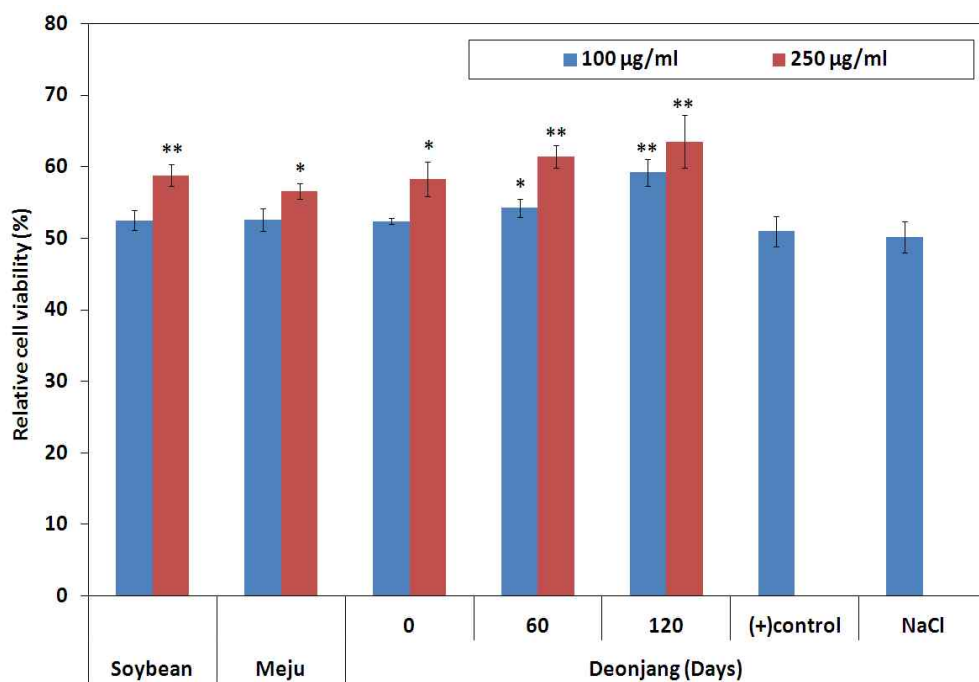


Fig. 4. Protective effect of 80% methanol extracts from soybean, Meju and Doenjang against H_2O_2 -induced cell death

Results are shown as mean \pm SD

* significantly different from the values of control at $p < 0.05$, ** significantly different from the values of control at $p < 0.01$, *** significantly different from the values of control at $p < 0.001$

3.6. 대장암세포(HT-29)의 세포 성장 억제 효과

대장암세포에 대한 세포 증식억제 효과를 측정하기 위하여 HT-29 세포에 5~5000 $\mu\text{g/mL}$ 농도로 6M의 콩, 메주, 된장의 메탄올 추출물을 처리하여 48시간 동안 배양하여 대장암 세포의 성장 억제 효과를 측정하였다. 추출물을 농도별로 처리한 결과(Fig. 5), 농도 의존적으로 대장암세포의 증식이 억제됨을 확인하였으며, 특히 메주의 효과가 콩과 된장에 비해 뛰어난 것으로 나타났다.

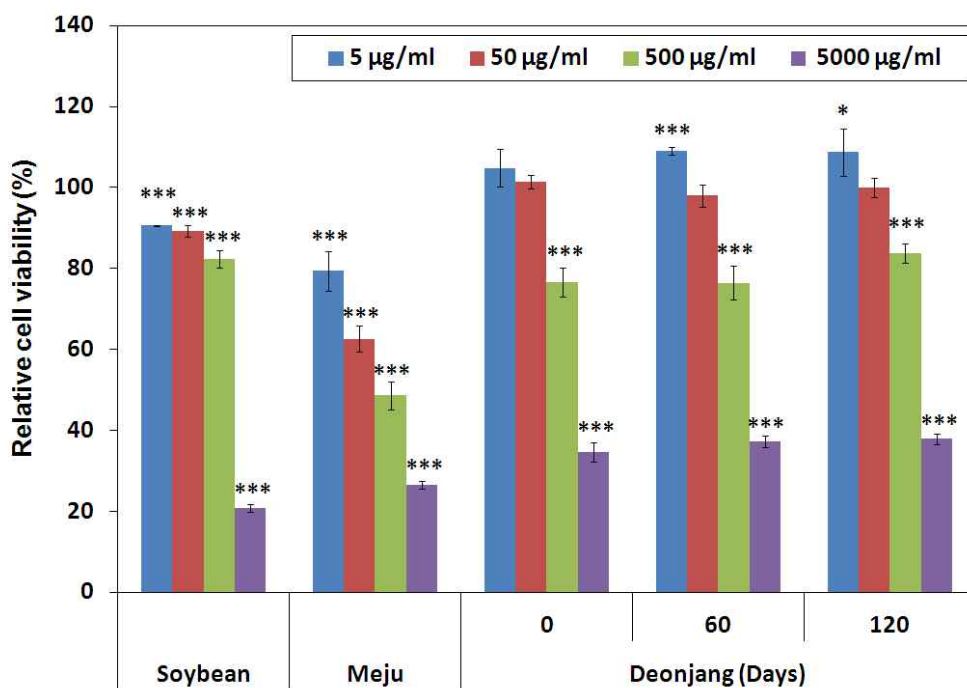


Fig. 5. Effect of methanol extract from soybean, Meju and Doenjang on cell viability in HT-29

Results are shown as mean±SD

* significantly different from the values of control at $p<0.05$, ** significantly different from the values of control at $p<0.01$, *** significantly different from the values of control at $p<0.001$

IV. 요약 및 결론

본 연구에서는 파종시기가 다른 대원콩(5월 하순에 파종: 5L, 6월 중순에 파종: 6M, 6월 하순에 파종: 6L)으로 전통메주와 된장을 제조한 후, 이 화학적 특성과 생리활성을 비교하여, 원료콩의 파종시기가 가공품질과 기능성 성분에 미치는 영향을 알아보고, 된장의 가공품질에 적합한 파종시기를 알아보고자 하였다.

1. 원료콩의 이화학적 특성을 살펴본 결과, 백립중, 외형적 특성과 조지방 함량은 파종시기에 따라 5L이 유의적으로 작게 나타났다. 색도는 6L이 메탄올 추출물의 갈색도와 명도가 높게 나타났고, 적색도와 황색도 값은 유의적으로 낮게 나타났다($p<0.05$). 무기질 함량 중 Na를 제외하고 파종시기에 따른 유의적인 차이는 없었고, K의 함량이 가장 높았다. 유리아미노산 함량은 Arg>Asp>Glu의 순으로 높게 나타났고, 총 유리아미노산 함량은 6M이 유의적으로 높았으나, GABA의 함량은 6M이 유의적으로 낮게 나타났다. pH 및 총산도, 완충능은 파종시기에 따른 유의적인 차이가 없었고, 환원당과 아미노테질소 함량은 6M이 유의적으로 높게 나타났다. 이소플라본, 총 폴리페놀과 총 플라보노이드 함량은 파종시기에 따른 차이가 없었으나, ACE 저해 효과와 DPPH 유티기 소거능은 6M이, ABTS 유티기 소거능은 5L이 유의적으로 높게 나타났다.

2. 파종시기가 다른 콩으로 제조한 메주의 수분, 조단백, 조지방, 조탄수화물함량이 파종시기에 따라 유의적인 차이를 나타냈다. 색도는 5L 메주의 명도가 유의적으로 높고, 적색도가 유의적으로 낮게 나타났으나, 메탄올 추출물의 갈색도는 차이가 없었다. 무기질 함량은 P, Na, K 등의 함량이 파종시기에 따라 유의적인 차이를 나타냈고, 유리아미노산은

Glu>Lys>Asp 순으로 많이 함유되어 있었으며, 총 유리아미노산 함량은 6M 메주가 유의적으로 높았으나, GABA의 함량은 5L 메주가 가장 높았다. pH는 6L 메주가 높았고, 총산도는 반대경향을 나타냈으나, 완충능은 파종시기에 따른 차이가 없었다. 환원당 함량과 ACE 저해 효과는 6L 메주가, 아미노테질소 함량과 이소플라본 함량은 6M 메주가 유의적으로 높았다. 총 폴리페놀과 총 플라보노이드 함량은 파종시기에 따른 유의적인 차이가 없었고, DPPH 유효기 소거능과 ABTS 유효기 소거능도 파종시기에 따른 차이가 없었다.

3. 파종시기가 다른 콩으로 만든 된장은 조단백 함량이 파종시기에 따라 유의적인 차이를 나타냈고, 숙성기간이 길어질수록 수분함량은 감소하고, 다른 일반성분 함량은 증가하였다. 된장의 색도는 메주의 색도와 같은 경향으로 유의적인 차이를 나타냈으며, 숙성기간이 길어질수록 명도는 감소하고 적색도는 증가했다. 메탄올 추출물의 갈색도는 6M 된장이 유의적으로 높게 나타났으며 숙성기간이 길어질수록 갈색도도 증가하였다. 무기질 함량은 파종시기에 따라 미량무기질에서 유의적인 차이를 나타냈으나 숙성기간에 따른 유의적인 변화는 없었다. 된장의 유리아미노산 함량은 Glu>Leu>Lys의 순으로 함유량이 많았으며 총 유리아미노산 함량은 6M 된장이 유의적으로 높았고, 숙성기간이 길어질수록 총 유리아미노산 함량이 유의적으로 증가하였다($P<0.05$). pH는 6M 된장에서 유의적으로 높게 나타났고, 숙성기간이 길어질수록 감소했으며, 총산도는 반대경향을 나타내었다. 6M 된장의 완충 효과가 크게 나타났고, 숙성기간이 길어질수록 완충 효과가 증가하였다. 염도와 아미노테질소 함량은 파종시기에 따라 6M 된장이 유의적으로 높았고, 숙성기간이 길어짐에 따라 유의적으로 증가하였다. 환원당 함량은 6M 된장이 높게 나타났고, 숙성기간이 길어짐에

따라 감소하였다. 이소플라본 함량은 6M 된장이 유의적으로 낮았고, 총 폴리페놀과 총 플라보노이드는 파종시기에 따른 유의적인 차이가 없었으나 DPPH 유리기 소거능과 ABTS 유리기 소거능은 6M 된장이 유의적으로 높았으며, 숙성기간이 길어짐에 따라 유의적으로 증가하였다. 파종시기가 다른 콩으로 제조한 된장에서 GABA의 함량과, ACE 저해 효과는 파종시기와 숙성기간에 따른 유의적인 차이가 없었다.

4. 6M의 콩, 메주, 된장의 MeOH 추출물의 세포 생존율을 살펴본 결과 V-79 세포에서는 세포 독성을 나타내지 않았고, H_2O_2 에 의해 유도된 산화적 스트레스에 대한 보호효과를 보였으며, 숙성기간에 따라 증가하는 경향을 나타냈다. 대장암(HT-29)의 세포 성장 억제 효과를 측정한 결과 메주가 가장 좋게 나타났다.

이상의 결과들을 종합하여 볼 때, 파종시기에 따른 영양성분 함량 및 기능성 물질이 차이를 나타냈으며 이는 메주에서 된장으로 발효되는 과정에 영향을 미치는 것을 확인하였다. 특히 6M의 콩, 메주, 된장의 갈색도, 아미노태질소, 총 폴리페놀 함량 등이 유의적으로 높게 측정되었고, 이에 따른 항산화작용이 가장 높게 나타났다. 또한 6M의 콩, 메주, 된장의 메탄올 추출물로 대장암 세포의 증식억제 및 산화적 스트레스 보호 효과를 확인한 결과 메주의 대장암 성장 억제 효과가 크게 나타났고, 된장의 숙성기간이 길어질수록 산화적 스트레스 보호 효과가 증가하는 경향을 보였다.

이러한 결과들은 장류용 콩과 더불어 가공적성을 고려한 파종시기를 선택할 수 있는 기초자료로 활용될 수 있을 것으로 사료되나, 한해의 결과물만으로 파종시기에 따른 성분 차이를 결론짓기는 어렵다고 판단되며, 장류의 특성상 미생물의 종류와 수, 숙성 중의 다양한 환경적 요인의 영향도 미쳤을 것으로 판단되어 추후의 연구가 확대되어야 할 필요가 있다.

참고문헌

- 농촌진흥청 농촌자원개발연구소. 2006. 식품성분표 제 7개정판. p.154
- 김우정. 2006. 콩·건강과 이용. p.312-326
- 오상룡, 강우원, 김미경, 신언환 등. 2008. 최신 식품학. 보문각. pp 57-60
- AOAC. 1990. AOAC, Official methods of analysis (15th edn.).
- Bang HP, Choi OK, Cho GS, Son JY, Ryu GH. 2006. The change of compositions and antioxidant effect in soybean cultivars picked in persimmon vineger. Korean J. Food Nutr. 19(4):398-409
- Bown AW, Shelp BJ. 1997. The metabolism and functions of γ -aminobutyric acid. Plant Physiol 115:1-5.
- Cappuccio FP, MacGregor CA. 1991. Does potassium supplementation lower blood pressure. A meta analysis of published trials. American J. Hypertension. 9:465-473
- Chen Hm, Muramoto K, Yamauchi F, Nokihara K. 1996. Antioxidant activity of designed peptides based on the antioxidative peptide isolated from digests of a soybean protein. J. Agric. Food Chem. 44(9):2619-2623
- Cho YS, Bae YI, Shim KH. 1999. Chemical components in different parts of korean sword bean(*canavalia gladiata*). Korean J. Postharvest Sci. Technol. 6(4):475-480
- Cho YS, Song J, Koo BC, Seo JH, Kim SD, Choi IS, Shin JC, Yang WH, Ha TJ. 2007. Effects of color differentiation and seed size of soybean on isoflavone concentration in soybean. Korean J. Crop Sci. 52(4):359-362
- Choi JS, Kwon TW, Kim JS. 1996. Isoflavone contents in some cultivars of soybean. Food Sci. Biotechnol. 5(2):91-93
- Choi JK, Kim MY, Lee NH, Jeong YS, Hwang YH. 2007. Changes in

- quality characteristics of Meju made with germinated soybean during fermentation. Korean J. Food Sci. Technol. 39:304-308
- Chung IM, Kim KH, Ahn JK. 1998. Screening of Korean medicinal and food plants with antioxidant activity. Korean J. Med. Sci. 6:311-322
- Hazra B, Biswas S, Mandal N. 2008. Antioxidant and free radical scavenging activity of *Spondias pinnata*. BMC Complement Altern. Med. 8:63
- Harue T, Hirokadzu T. 1971. Influence of location on the chemical composition of soybean seeds. National food research institute, ministry of agriculture and forestry, Koto-Ku, Tokyo. 213-225
- Heo YH. 2007. Studies on quality evaluation and metal content of fermented Doengjang added green tea powder in sanitary canned. Korean J Sanitation 22:37-47
- Herrmann K. 1976. Flavonoid and flavonoid in plants, A review. Food Technol. 11:433-448
- Ho HM, Chen R, Huang Y, Chen ZY. 2002. Vascular effects of a soy leaves(*Glycine max*) extracts and kaempferol glycosides in isolated rat carotid arteries. Planta Med. 68:487-491
- Huang D, Ou B, Prior RL. 2005. The chemistry behind antioxidant capacity assays. J. Agric. Food Chem. 53:1841-1856
- Hymowitz T, Collins FI, Panczner J, Walker WM. 1972. Relationship between the content of oil, protein and sugar in soybean seed. Agron. J. 64(5):613-616
- Jeon MK, Kim MR. 2006. Quality characteristics of tofu prepared with herbs. Korean J. Food Cookery Sci. 22(1):30-36
- Jing H, Kitts DD. 2000. Comparison of the antioxidative and cytotoxic properties of glucose-lysine and fructose-lysine Maillard reaction products. Food Res Int. 33:509-516.

- Jo SJ, Hong CO, Yang SY, Cho KK, Kim HK, Yang H, Lee KW. 2011. Changes in contents of γ -aminobutyric acid (GABA) and Isoflavones in traditional Korean Doenjang by ripening times. J Korean Soc Food Sci Nutr. 40(4):557-564
- Jung MS, Lee GS, Chae HJ. 2004. In vitro biological activity assay of ethanol extract of radish. J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem. 47(1): 67-71
- Jung SW, Kwon DJ, Koo MS, Kim YS. 1994. Quality characteristics and acceptance of Doenjang prepared with rice. Agric Chem Biotechnol. 37(4): 266-271
- Kim DH, Lee KH, Yook HS, Kim JH, Shin MG, Byun MW. 2000. Quality characteristics of gamma irradiated grain shape improved Meju. Korean J. Food Sci. Technol. 32(3):640-645
- Kim EK. 2004. Quality Assessment and fermentation ability study using domestic and imported soybean. Inje University. Master's Thesis
- Kim HH, Lee KH, Yook HS, Kim JH, Shin MG, Byun MW. 1993. Quality characteristics of gamma irradiated grain shape improved Meju. Korean J. Food Sci. Technol. 32:640-645
- Kim SS, Kim SK, Ryu MK, Cheigh HS. 1983. Studies on the color improvement of Doenjang (fermented soybean paste) using various *Aspergillus oryzae* strains. Korean J Appl Microbiol Bioeng 11:67-74.
- Kim SH. 1997. Fractionation of angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitory peptides from soybean paste. Korean J Food Sci 7:230-234
- Kim JH, Lee DH, Jeong SC, Chung KS, Lee JS. 2004. Characterization of antihypertensive angiotensin I -converting en-

- zyme inhibitor from *S. cerevisiae*. *J Microbiol Biotechnol* 14: 1318-1323.
- Kim JG. 2004. Changes of components affecting organoleptic quality during the ripening of traditional Korean soybean paste. *J. Fd. Hyg. Safety* 19:31-37
- Kim KS, Kim MJ, Lee KA, Kwon DY. 2003. Physico-chemical properties of korean traditional soybeans. *Korean J. Food Sci. Technol.* 35(3):335-341
- Kim KS, Kim MJ, Park JS, Shon HS, Kwon DY. 1990. Composition and proximate compositions of the recommended soybean cultivars in Korea. *Korean J. Food Sci. Technol.* 22:398-404
- Kim MY, Im SS, Yoo YB, Kim GE, Lee JH. Antioxidative materials in domestic Meju and Doenjang 4. separation of phenolic compounds and their antioxidative activity. *J. Jorean Soc. Food Nutr.* 23(5):792-798
- Kim MY, Ahn JK, Jung WS, Chung IM. 2006. Comparision of the SOD and DPPH activity, L-amino acid contents of edible mushrooms and medicinal mushroom. *Korean J. Med Crop Sci.* 51:330-331
- Kim SG. 2008. Studies on the Physicochemical characteristics and soybean curd processing suitability of Korean soybeans and imported soybeans. Korea University. Master's Thesis
- Kim SR, Kim SD. 1996. Studies on soybean isoflavones : 1. Content and distribution of isoflavones in Korea soybean cultivars. *RDA J. Agric Sci.* 38:155-165
- Kim SS. 1978. Effect of Meju shapes and strains on the quality of soy sauce. *Korean J Food Sci Technol.* 10:63-72
- Kim ZU, Byun SM. 1966. Studies on the protein of Korean soybeans.

- J. Korean Soc. Agric. Chem. Biotech. 7:79-84
- Kim JS. 2005. A comparative study of physicochemical characteristics of Soy Sauce and OYUKJANG during storage at different ripening temperatures. Masters degree thesis. Kyung Hee
- Kim MJ, Rhee HS. 1990. Studies on the changes of taste compounds during soy fermentation(1). Korean J. Soc. Food Sci., 6(4):1-8
- Kuhnau J. 1976. The flavonoid. A class of semi-essential food components: their role in human nutrition. World Rev. Nutr. Diet. 24:117-191
- Kwon SH, Shon MY. 2004. Antioxidant and anti-carcinogenic effects of traditional doenjang during maturation times. Korean J Food Preserv. 11:461-467.
- Kwon SH, Oh JH, Kim JR, Song HS, Kim BW. 1975. Articles: Diversity of protein and oil contents of the Korean native soybean seeds II. Korean J. Breeding. 7(1):40-44
- Lee DH, Kim JH, Yoon BH, Lee GS, Choi SY, Lee JS. 2003. Changes of physiological functionalities during the fermentation of medicinal herbs Doenjang. Korean J Food Preser 10:213-218
- Lee DH, Kim JH, Park JS, Choi YJ, Lee JS. 2004. Isolation and characterization of a novel angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptide derived from the edible mushroom *Tricholoma giganteum* Peptides. 25:621-627.
- Lee HT. 2009. A Study on Quality characteristics and biological activities of soybean pastes adding sword bean. doctors degree thesis. Hanyang University. pp 1, 39
- Lee KH, Kim ND, Yoo JY. 1997a. Survey on the manufacturing process of traditional Meju for and of Kangjang (Korean soy sauce). Korean J. Soc. Food Sci. Nutr. 26(3):390-396

- Lee JS, Kwon SJ, Ahn C, Yoo JY. 1997b. Enzyme activities and physiological functionality of yeasts from traditional Meju. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 25:448-453
- Lee JH, Kim MH, Im SS. 1991. Antioxidative materials in domestic Meju and Doenjang: 1. Lipid oxidation and browning during fermentation of Meju and Doenjang. *J Korean Soc Food Nutr.* 20:148-155.
- Lee JS. 1977. Studies on the biochemical features of soybean seeds for higher protein variety. *J. Korean Soc. Crop Sci.* 22(1):135-166
- Lim SD, Kim KS. 2009. Effects and utilization of GABA. *Korean J. Dairy Sci. Technol.* 27(1):45-51
- Naim M, Gestetner B, Kirson I, Birk Y, Bondi A. 1973. A new isoflavone from soya beans. *Phytochem.* 22:237-239
- Maubach J, Bracke ME, Heyerick A, Depypere HT, Serreyn RF, Mareel MM, DeKeukeleire D. 2003. Quantitation of soy-derived phytoestrogens in human breast tissue and biological fluids by high-performance liquid chromatography. *J. Chrom. B* 784:137-144
- Meda A, Lamien CE, Romito M, Millogo F, Nacoulma OG. 2005. Determination of the total phenolic, flavonoid and proline content in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. *Food Chem.* 91:571-577
- Mun GS, Kwon TW, Lyu SH. 2003. Comparison of antioxidative activities of soybean components by different assays. *Korean Soybean Digest.* 20:28-36.
- Naim M, Gestetner B, Bondi A, Birk Y. 1976. Antioxidative and antihemolytic activities of soybean isoflavones, *J. Agri. Food Chem.*, 24(6):1174-1177
- No JD, Lee JH, Lee DH, Choi SY, Kim NM, Lee JS. 2006. Changes

- of quality and physiological functionality during the fermentation of Doenjangs made by isolated nuruk mold and commercial nuruk mold. J Korean Soc Food Sci Nutr. 35(8):1025-1030
- Noh H, Song KB. 2001. Isolation of an angiotensin converting enzyme inhibitor from *Oenathe javanica*. Agric chem Biotechnol. 44:98-99
- Oh HI, Park JM. 1997. Changes in quality characteristics of traditional Kochujang prepared with a Meju of different fermentation period during aging. Korean J. Food Sci. Technol. 29:1166-1174
- Oh SJ, Kim SH, Kim SK, Baek YJ, Cho KH. 1997. Angiotensin I - converting enzyme inhibitory activity of the K-casein fragments hydrolyzated by chymosin, pepsin and trypsin. Korean J Food Sci. Technol. 29:1316-1318
- Okawa M, Kinjo J, Nohara T, Ono M. 2001. DPPH radical scavenging activity of flavonoids obtained from some medicinal plants. Biol. Pharm. Bull. 24(10):1202-1205
- Park JS, Lee MR, Kim JS, Lee TS. 1994. Composition of nitrogen compound and amion acid in soybean paste (Doengjang) propared with different microbial sources. Korean J. Food Sci. Thechnol. 26:609-615
- Park KY, Hwang KM, Jung KO, Lee KB. 2002. Studies on the standardization of Doenjang (Korean soybean paste) 1. Standardization of manufacturing method of Doenjang by literatures. J Korean Soc Food Sci Nutr. 31:343-350
- Park KY, Jung KO. 2005. Fermented soybean products as functional foods: functional properties of Doenjang (fermented soybean paste). In Asian Functional Foods. Taylor & Francis Group, LLC, CRC Press, USA. pp 555-596.
- Park JW, Lee YJ, Yoon S. 2007. Total flavonoids and phenolics in

- fermented soy products and their effects on antioxidant activities determined by different assays. Korean J. Food Culture. 22(3):353-358
- Peterson TG, Barnes S. 1991. Genistein inhibition of the growth of human breast cancer cells: independence from estrogen receptors and multi-drug resistance gene product. Biochem. Biophys. Res. Commun. 179:661-667
- Pratt DE, Birac P. 1979. Source of antioxidant activity of soybean and soy products. J. Food Sci. 44:1720-1722
- Rahardjo YSP, Sie S, Wever FJ, Tramper J, Rinzema A. 2005. Effect of low oxygen concentrations on growth and α -amylase production of *Aspergillus oryzae* in model solid-state fermentation systems. Biomolecular Engineering. 21:163-172
- Record IR, Dreosti IE, McInerney J. 1995. The antioxidant activity of genistein in vitro. J. Nutr. Biochem. 6:481-485
- Roberta RE, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang, M, Rice-Evans C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radical Biology & Medicine. 26:1231-1237.
- Seo YJ. 2010. Physicochemical characteristics of soybeans cultivated in different region and soybean curd properties. Seoul National University. Master's thesis University. pp 37-53
- Seo JH, Jeong YJ. 2001. Quality characteristics for Doenjang using squid internal organs. Korean J. Food Sci. Technol., 33(1):89-93
- Seo JS, Lee TS. 1992. Free amino acid in traditional soy sauce prepared from Meju under different formations. Korean J. Dietary Culture, 7(4):323-328
- Shin SH. 1989. Mutagenicity and antimutagenicity of 'Meju', hot sauce and other Korean foods by Salmonella/mamma-lian-microsome test.

- Abstract the 5th Federation of Asian and Oceanian Biochemists, Seoul, Korea. pp 301.
- She GM, Zhang YJ, Yang CR. 2009. Phenolic constituents from *Balanophora laxiflora* with DPPH radical-scavenging activity. *Chem. Biodivers.* 6(6):875-880
- Shin JH, Lee JY, Ju JC, Lee SJ, Cho HS, Sang NJ. 2005. Chemical properties and nitrate scavenging activity of citron (*Citrus junos*). *J Korean Soc Food Sci Nutr* 34:496-502.
- Singleton VL, Rossi JA. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *J. Am. Enol. Vitic.* 16:144-158
- Suter PM. 1998. Potassium and hypertension. *Nutrition Review.* 56(6):151-153
- Wang C, Kuan SS, Francis OJ, Ware GM, Carman AS. 1990. A simplified HPLC method for the determination of phytoestrogens in soybean and its processed products. *J. Agric. Food Chem.* 38:185-190
- Walter ED. 1941. Genistin (an isoflavone glucoside) and its aglycone, genistein from soybeans. *J. Am. Chem. Soc.* 63:3273-3276
- Wolf RB, Cavins JF, Keliman R, Black LT. 1982. Effect of temperature on soybean seed constituents: oil, protein, moisture, fatty acid, amino acids. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 59(5):230-232
- Yeon, BC, Heon SS. 1998. Isoflavone content in Korean fermented and unfermented soybean foods. *Korean J. Food Sci. Technol.*
- Yoo KM, Kim DO, Lee CY. 2007. Evaluation of different methods of antioxidant measurement. *Food Sci. Biotech.* 16:177-182
- Yoo JY, Kim HG, Kim WJ. 1998. Physicochemical and microbiological changes of traditional Meju during fermentation in Kanweondo area.

- Korean J. Food Sci. Technol. 30:908-915
- Zaidi A, Fernandes D, Bean JL, Michaelis ML. 2009. Effects of paraquat-induced oxidative stress on the neuronal plasma membrane Ca^{2+} -ATPase. Free Radic. Biol. Med. 47(10):1507-1514
- Zheng JZ, Jin YZ, Row KH. 2005. Analysis of isoflavone from Korean and Chinese soybean and processed products by HPLC. Journal of the Korean Chemical Society. 14(4):349-354

Abstract

Physicochemical and Functional Characteristics of Traditional Meju and Doenjang with Soybean in Different Seeding Times

Sun-Hee, Kang

Department of Food and Nutrition

The Graduate School

Seoul National University

The objectives of this study were to investigate the physicochemical and functional characteristics of soybean seeded in late May (5L), mid June (6M) and late June (6L), and Korean traditional Meju and Doenjang made from these soybeans.

There were significant differences in the weight and size of soybean with different seeding times ($p < 0.05$). Seeding time significantly affected the crude lipid content and mineral composition of soybean, Meju and Doenjang. Difference in seeding time also resulted in significantly different Hunter color values on Meju and Doenjang. Although brown color value of soybean and Meju MeOH extract were not significantly different, brown color value of Doenjang MeOH extract showed significant difference. And brown color value of Doenjang MeOH extract increased during the fermentation. Total free amino acid, amino nitrogen and reducing sugar contents of soybean, Meju and Doenjang

were the highest in 6M. During the fermentation, total free amino acid and amino nitrogen contents of Doenjang increased while the reducing sugar contents decreased. GABA contents of soybean and Meju were different according to the seeding times, but Doenjang showed no difference regardless of seeding times and fermentation periods. Different seeding time did not significantly affect the pH and total acidity of soybean, but affected that of Meju and Doenjang. During the fermentation, pH of Deonjang was decreased while total acidity was increased.

Seeding time had no effect on the total isoflavone contents of soybean, but had effect on Meju and Doenjang. Total polyphenol and total flavonoid contents of soybean, Meju and Doenjang MeOH extracts were not affected by the seeding time. Total polyphenol contents were increased during the fermentation but total flavonoid contents did not changed during the fermentation. DPPH radical scavenging activity and ABTS radical scavenging activity of soybean and Doenjang were significantly different with the seeding time and the radical scavenging activities of Doenjang increased during the fermentation.

The MeOH extracts of soybean, Meju and Doenjang from 6M protected the V79 cells from H_2O_2 -induced oxidative damage compared to H_2O_2 treated control. The MeoH extracts of soybean, Meju and Doenjang showed significant anticancer effects against colorectal cancer cell line, HT-29 ($p<0.05$). Among the tested samples, Meju extract had the highest anticancer effects.

In conclusion, seeding time affects the physiochemical characteristics of the soybean and its fermented products, Meju and Doenjang.

Therefore, seeding time should be considered when choosing the soybean to make soybean products.

Keyword : soybean, traditional Meju, traditional Doenjang, Physicochemical Characteristics, Functional Characteristics, seeding times

Student number : 2010-21588